T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

POLİKİSTİK OVER SENDROMU OLAN HASTALARDA KORNEA KATMANLARININ KONFOKAL MİKROSKOP İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

DR. RÜVEYDA BALOĞLU

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2023

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

POLİKİSTİK OVER SENDROMU OLAN HASTALARDA KORNEA KATMANLARININ KONFOKAL MİKROSKOP İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

DR. RÜVEYDA BALOĞLU

UZMANLIK TEZİ

Danışman: PROF. DR. AHMET ÖZKAĞNICI

KONYA, 2023

TEŞEKKÜR

Göz Hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca, bilgi ve tecrübeleriyle eğitimimde büyük katkı ve emekleri olan başta tez danışmanım Prof. Dr. Ahmet Özkağnıcı' ya ve değerli hocalarım Prof. Dr. Nazmi Zengin, Prof. Dr. Mehmet Okka, Prof. Dr. Hürkan Kerimoğlu, Prof. Dr. Günhal Şatırtav Akdeniz, Prof. Dr. Refik Oltulu, Doç. Dr. Gülfidan Bitirgen ve Dr. Öğr. Üyesi Selman Belviranlı, Dr. Öğr. Üyesi Enver Mirza, Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Adam'a,

Kadın Doğum hastalıkları Kliniği'nde tez aşamasında tanıştığım için kendimi şanslı hissettiğim ve tezimin ilerlemesindeki destekleri için Dr. Öğr. Üyesi Fatma Kılıç'a

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum çalışma ortamımı güzelleştiren, uzmanlık eğitimini tamamlamış ve hala araştırma görevlisi olarak görev yapan tüm arkadaşlarıma;

Bu yolda her zaman motivasyon kaynağım olan, aynı zamanda meslektaş olduğum için şanslı hissettiğim canım dostum Uzm. Dr. Fatma Sali'ye

Yoğun çalışma temposunda dahi desteklerini ve hoşgörülerini esirgemeyen Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda servis, ameliyathane, poliklinik ve birimlerde çalışan hemşire, teknisyen, sekreter ve personel arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca desteklerini benden esirgemeyen, her türlü fedakârlık ve özveriyi gösteren, anneme, babama ve sevgili kardeşlerime,

Minnet, saygı, sevgi ve şükranlarımı sunar; içtenlikle teşekkür ederim.

Dr. Rüveyda Baloğlu

Konya, 2023

ÖZET

POLİKİSTİK OVER SENDROMU OLAN HASTALARDA KONFOKAL MİKROSKOP ARACILIĞIYLA KORNEA KATMANLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Amaç: Polikistik over sendromu (PKOS) tanılı hastalarda kornea tabakalarında meydana gelen değişiklikleri konfokal mikroskop ile değerlendirmek ve göz yaşı düzeyindeki değişiklikleri ortaya koymaktır.

Gereç ve Yöntem: Meram Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğinde PKOS tanılı 41 hasta ve 22 sağlıklı olgu kontrol grubu olarak çalışmaya dâhil edildi. Olguların tek gözü değerlendirildi. Tek merkezli, prospektif bir klinik araştırma olarak gerçekleştirildi. Tam bir oftalmolojik muayeneden sonra, hastalara oküler yüzey hastalık indeksi anketi (OYHİ) uygulandı. Zaman aralıkları en az bir saat olacak şekilde sırayla gözyaşı kırılma zamanı (GKZ) ve Schirmer-I testi yapıldı.

İn vivo Konfokal mikroskopla (IVKM) kornea tabakaları değerlendirildi. Automated CCMetrics software, v 2.0 programı (University of Manchester, UK) ile sinir lifi analizi ve bu kesitlerden manuel sayımla dentritik hücre analizi yapıldı. Elde edilen sonuçlar gruplar arasında istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Hastaların yaş ortalaması 25,07 ± 4,84 yıl ve kontrol grubunun yaş ortalaması 24,09 ± 3,87 yıl olup aralarında istatistiksel fark yoktu. PKOS grubunda Schirmer-I ve anterior stromal keratosit düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük tespit edildi (sırasıyla; p=0,002; p=0,020). PKOS ve kontrol grupları arasında GKZ skor sonucunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptandı (p<0,001). PKOS grubunda dendritik hücre sayısı kontrol grubuna göre istatistiki olarak daha yüksek, kornea sinir lifi dansitesi daha düşük tespit edildi (sırasıyla; p<0,001; p=0,044).

Sonuç: PKOS'da oküler yüzey etkilenmesiyle kuru göz belirtileri oluşabilir. Ayrıca hormonal dengenin değişmesi ve kronik inflamasyon kornea katmanlarını etkileyebilir. Bu nedenle PKOS olgularında oftalmolojik muayenelerde ve yapılacak oküler girişimlerde bu değişikliklikler göz önünde bulundurulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Konfokal mikroskopi, kornea, Shirmer testi, gözyaşı, oküler yüzey, polikistik over sendromu

ABSTRACT

EVALUATION OF CORNEA LAYERS WITH CONFOCAL MICROSCOPE IN PATİENT WITH POLYCYSTIC OVER SYNDROME

Purpose: Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a disease characterized by oligo-anovulation, hyperandrogenism in women. The appearance of polycystic ovaries by ultrasonic imaging is typical. Studies have shown that oculer surface affected in PCOS cases. The aim of this study; is to evaluate the ocular surface and corneal layers by confocal microscope in patients with PCOS.

Materials and Methods: There were 41 cases in the patient group. Cases with PKOS were being followed up in Meram Medical Faculty, Obstetrics and Gynecology Outpatient Clinic. The control group consisted of 22 healthy person. There were evoluated only one eye of the patient in both groups. The research was planned as a single-center, prospective clinical study. There were performed complete ophthalmological examinations of the cases in both groups. Ocular surface disease index (OSDI) questionnaire, tear break up time test (BUT), Schirmer-I test were applied to the cases.

Corneal layers were evaluated with an in vivo confocal microscope (IVKM). Nerve fiber analysis was performed with Automatic CCMetrics software, v 2.0 program (University of Manchester, UK) and dendritic cell analysis was performed by manual counting from these sections. The results obtained were statistically evaluated between the PKOS and control groups.

Results: The avarage age of the patients in PKOS was 25.07 ± 4.84 years and the avarage age of the control group was found to be 24.09 ± 3.87 years. There was no significant difference between the PKOS and control groups in terms of age. Schirmer-I test score and anterior stromal keratocyte levels were found to be statistically significantly lower in the PCOS group compared to the control group (p values, respectively; p=0.002; p=0.020). A statistically significant difference was found between the PCOS and control groups in BUT scores (p<0.001). The number of dendritic cells in the PCOS group was statistically higher than the control group, and the corneal nerve fiber density was lower (respectively; p<0.001; p=0.044).

Conclusion: Schirmer-I test and BUT score were found to be lower in PCOS patients compared to the control group. These results suggests that PCOS can cause dry eye disease. An increase in inflammatory cells of the cornea was observed with the confocal microscope and structural changes in the cornea layers were evaluated at the cellular level with an in vivo confocal microscope. It reveals that changing hormonal balance and chronic inflammation are target organs of cornea and ocular adnexal structures. It should be kept in mind that there may be changes in the cornea and ocular surface elements in the ophthalmological examinations and in the planned ocular interventions of PCOS patients

Keywords: Confocal microscopy, cornea, Shirmer test, tear break up time, ocular surface, polycystic ovary syndrome

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR ..... **iii**
ÖZET ..... **iv**
ABSTRACT ..... **vi**
İÇİNDEKİLER ..... **viii**
TABLOLAR ..... **x**
ŞEKİLLER ..... **xi**
SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **xii**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL BİLGİLER **3**
2.1. Polikistik Over Sendromu 3
2.1.1. Epidemiyoloji, Tarihçe ve Tanı Kriterleri 3
2.1.2. Patofizyoloji 5
2.2. Kornea 7
2.2.1. Kornea Anatomisi 7
2.2.2. Kornea Embriyolojisi 7
2.2.3. Kornea Histolojisi 8
2.2.3.1. Epitel Tabakası 8
2.2.3.2. Bowman Tabakası 9
2.2.3.3. Stroma 9
2.2.3.4. Dua Tabakası (Predesmetik Membran) 10
2.2.3.5. Descemet Membranı 10
2.2.3.6. Endotel Tabakası 10
2.2.4. Kornea İnnervasyonu 11
2.2.5. Korneanın Optik Özellikleri 11
2.2.6. Kornea Muayene Yöntemleri 11
2.2.6.1. Gözyaşı Kırılma Zamanı (GKZ) 12
2.2.6.2. Schirmer testi 12
2.2.6.3. Konfokal Mikroskopi 13
2.2.6.4. Normal Korneanın Konfokal Mikroskopik Analizi 15
3. GEREÇ VE YÖNTEM **20**
3.1. Hasta ve Gönüllülerinin Seçimi 20

3.2. Oküler Yüzey Hastalık İndeksi (=Ocular Surface Disease Index, OYHİ) 21
3.3. Schirmer-I testi 22
3.4. Gözyaşı Kırılma Zamanı (GKZ) 23
3.5. Konfokal Mikroskopi 23
3.6. İstatistiksel Yöntemler 25
4. BULGULAR 26
5. TARTIŞMA 35
6. SONUÇ 41
7. KAYNAKLAR 42

TABLOLAR

Tablo 1: PKOS kriterleri 4
Tablo 2: PKOS fenotipleri 4
Tablo 3: PKOS patofizyolojisinin şematik anlatımı 6
Tablo 4: PKOS ve kontrol grubunun yaş, ilaç kullanımı, OYHİ skoru ve konfokal mikroskopi ile elde edilen parametrelerin karşılaştırılması 27
Tablo 5: Schirmer-I testine göre PKOS ve kontrol grupları arasında OYHİ, GKZ ve konfokal mikroskopi ile elde edilen parametrelerin karşılaştırılması 29
Tablo 6: GKZ skoruna göre PKOS ve kontrol gruplarında OYHİ, Schirmer-I testi, konfokal mikroskopi ile elde edilen parametrelerin karşılaştırılması 30
Tablo 7: PKOS ve kontrol grubununda konfokal mikroskopi ile değerlendirilen SBNP tabakasından elde edilen parametrelerin karşılaştırılması 30
Tablo 8: Schirmer-I testine göre PKOS ve kontrol gruplarında konfokal mikroskop SBNP tabakasından elde edilen parametrelerin karşılaştırılması 31
Tablo 9: GKZ skoruna göre PKOS ve kontrol gruplarında konfokal mikroskop ile SBNP tabakasından elde edilen parametrelerin karşılaştırılması 32
Tablo 10: PKOS'lu hastalarda yaş, Schirmer-I testi, OYHİ ve konfokal mikroskop verilerinin korelasyon analizi 33

ŞEKİLLER

Şekil 1: Korneanın embriyonel gelişimi, epitel, stroma ve endotel oluşumu. 8
Şekil 2: Konfokal lazer mikroskobunun çalışma prensibi – Gramatikov ve ark.'dan (30) alınmıştır. 14
Şekil 3: Kliniğimizdeki konfokal mikroskop görüntüsü (Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Kliniği Kornea Birimi arşivinden alınmıştır) 15
Şekil 4: KM kornea bazal epitel hücre tabakasının görüntüsü (Çalışmada değerlendirilen kontrol grubu hastalarından alınan kesit örneği) 16
Şekil 5: KM kornea subbazal sinir pleksus tabakasının görüntüsü (Çalışmada değerlendirilen kontrol grubu hastalarından alınan kesit örneği) 17
Şekil 6: KM kornea ön stromal keratositlerin görüntüsü (Çalışmada değerlendirilen kontrol grubu hastalarından alınan kesit örneği) 18
Şekil 7: KM kornea arka stromal keratositlerin görüntüsü (Çalışmada değerlendirilen kontrol grubu hastalarından alınan kesit örneği) 18
Şekil 8: KM endotel hücre tabakasının görüntüsü (Çalışmada değerlendirilen kontrol grubu hastalarından alınan kesit örneği) 19
Şekil 9: OYHİ anketi 22
Şekil 10: Kornea sinir liflerini gösteren şekil örneği (Çalışmada değerlendirilen kontrol grubu hastalarından alınan bir kesit) 24
Şekil 11: Şekil 10'da örnek olarak gösterilen kornea sinir kesitinin Automated CCMetrics software v 2.0 programı ile otomatik hesaplaması 24
Şekil 12: PKOS ve kontrol grupları arasında epitel ve endotel hücre sayılarının dağılımı 28
Şekil 13: PKOS ve kontrol grupları arasında anterior ve posterior stromal keratosit sayılarının dağılımı 28
Şekil 14: PKOS ve kontrol grupları arasında kornea sinir lif dansitesi, kornea sinir dal dansitesi, kornea sinir lif uzunluğu dağılımları 31
Şekil 15: Dendritik hücre sayısının ROC analizi 33
Şekil 16: Kornea sinir lif dansitesi değerinin ROC analizi 34

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACTH	**:**	Adrenokortikotropik hormon
AES	**:**	Androgen Excess Society
CRP	**:**	C-Reaktif Protein
D	**:**	Diyoptri
DM	**:**	Diyabetes Mellitus
GAG	**:**	Glikozaminoglikan
GKZ	**:**	Gözyaşı Kırılma Zamanı (Break Up Time)
GnRH	**:**	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
IGF-1	**:**	İnsülin-like growth faktör
IL-18	**:**	İnterlökin-18
IL-6	**:**	İnterlökin-6
KM	**:**	Konfokal Mikroskop
LH	**:**	Lüteinleştirici hormon
mm	**:**	milimetre
NIH	**:**	National Institude of Health
OYHİ	**:**	Okuler Yüzey Hastalık İndeksi (OSDİ-Oculer Surface Disease İndex)
PKOS	**:**	Polikistik Over Sendromu
SBNP	**:**	Subbazal Sinir Pleksus
SKK	**:**	Santral korneal kalınlık
TNF-α	**:**	Tümör Nekrozis Faktör alfa
µm	**:**	mikrometre

1. GİRİŞ

Polikistik over sendromu (PKOS), üreme çağında görülen jino-endokrino-metabolik bozukluktur. Etiyolojisinde önemli gelişmeler kaydedilmiş olsa da hala karmaşıklığı devam eden ve genetik faktörlerin de etkili olduğu düşünülen multifaktöryel bir hastalıktır. PKOS klinik veya biyokimyasal hiperandrojenizm, oligo-anovulasyon ve ultrasonografik görüntülemeyle polikistik over morfolojisi görünümü ile seyreden bir sendromdur. Patofizyolojisinde esas neden hastalarda hipotalamustan salgılanan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) pulsasyonunda artış olduğu düşünülmektedir. Bunun sonucunda hipofizden lüteinleştirici hormon (LH) salgılanması daha sık ve yüksek düzeylerde olmaktadır. LH salgılanmasındaki artış sonucunda teka hücrelerinde androjen sentezi artmaktadır Ayrıca artan insülin direnci sonucunda ortaya çıkan hiperinsülinemi ve steroid sentezindeki değişikliklerin, sendromun altında yatan diğer nedenler olduğu düşünülmektedir (1). Bunların bir sonucu olarak menstrüasyon bozukluğu, hirşutizm, akne, saç dökülmesi, infertilite ortaya çıkabilirken, Tip 2 Diyabetes Mellitus (DM), metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalık riskinde artış, dislipidemi, depresyon ve over- endometrium kanseri gibi çok sayıda hastalıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir (2).

PKOS'un multisistemik tutulumunun yanı sıra oküler tutulumunun olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Değişen steroid hormon dengesinin oküler adneksleri etkileyerek kuru göz sendromuna yol açabileceği (3), meibomian gland disfonksiyonuna sebep olarak gözyaşı film tabakasında değişikliklerle beraber yine kuru göze yol açabileceği bildirilmiştir (4). Ortaya çıkan hiperandrojenizm, insülin direncine bağlı artan hiperinsülinemi gibi artmış steroid hormon seviyesinin ve kronik inflamasyonun kornea dokusunda değişikliklere yol açtığı düşünülmektedir.

Oküler adnekslerin tutulumuyla seyreden bakteriyel ve viral konjonktivit gibi enfeksiyöz durumlarda, üveit, glokom gibi gözün primer hastalıklarında korneanın etkilenmesi mümkünken, immünolojik, genetik, endokrinolojik hastalıklarda da sistemik tutulumun yanında kornea ve oküler adnekslerde etkileşim olabildiği gösterilmiştir (5).

Korneayı değerlendirmek için oftalmolojik muayenede en sık kullanılan cihaz; slit lamp biyomikroskoptur. Korneada meydana gelen değişikliklerin incelenmesi için biyomikrosopik muayene ile büyütme artışı yapıldıkça görüntü netliği sağlanamayabilir ve görüntü kalitesinde bozulmalar olması nedeniyle yeni muayene yöntemleri geliştirilmiştir.

Gelişen teknoloji ile kornea ve hastalıklarını değerlendirmede son 20 yıldır kullanılan korneal konfokal mikroskopi (KKM), non-invaziv, hızlı, uygun maliyeti ile kornea katmanlarını in vivo olarak hücresel düzeyde değerlendirmeye olanak sağlamaktadır (6).

Konfokal mikroskopi (KM) teknolojisinde aydınlatıcı nokta ile gözlemlenen nokta eş odaklıdır. Bu sayede canlı hücre mimarisi çözünürlük arttırılarak ve korneanın 800 kata kadar büyütülerek değerlendirilmesini mümkün kılmaktadır. Konfokal mikroskopi ile koronal kesitler elde edilerek kornea epiteli, Bowman tabakası, stroma, keratositler, sinir lifi tabakası ve kornea endoteli 1-2 μm çözünürlükte değerlendirilebilir (7).

Bu çalışmada in vivo lazer taramalı KKM cihazı kullanılarak PKOS tanısı olan hastalarda kornea hücre ve sinir yapılarının değerlendirilmesi ve sonuçların sağlıklı bireylerle karşılaştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Polikistik Over Sendromu

2.1.1. Epidemiyoloji, Tarihçe ve Tanı Kriterleri

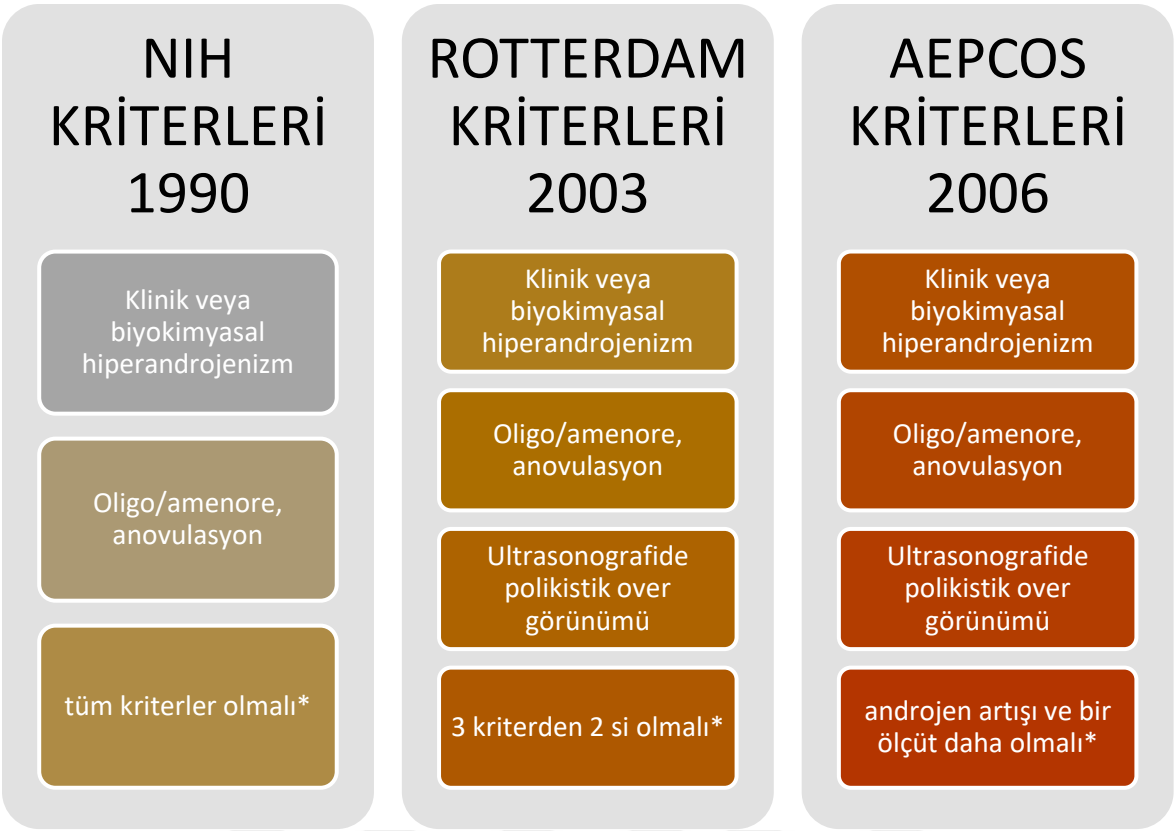
PKOS hiperandrojenemi (hirşutizm ve/veya hiperandrojenemi) ve over disfonksiyonu (oligo-ovulasyon ve/veya polikistik over morfolojisi) ile seyreden, hiperprolaktinemi, konjenital adrenal hiperplazi gibi spesifik tanıların dışlanarak tanımlandığı üreme çağındaki kadınlarda görülen heterojen bir hastalıktır. Prevelansı ülkelere göre değişmekte olup, yapılan çalışmalarda genel olarak dünyadaki kadınların %6-20'sinde görüldüğü bildirilmiştir (8).

İlk olarak 1935 yılında Amerikalı jinekolojistler Irving F. Stein ile Michael L. Leventhal tarafından 'anovulasyonla birlikte over kistlerinin varlığı' olarak tanımlanmıştır ve Stein Leventhal Sendromu olarak da adlandırılmıştır. 1990 yılında NIH (National Institude of Health) kriterleri tanımlanmıştır. Daha sonra 2003 yılında Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (American society for Reproductive Medicine, ASRM) ve Avrupa İnsan Üreme ve Embriyoloji Derneği (European Society of Human Reproduction and Embryology, ESHRE) ile Rotterdam'da yapılan bir konferansla dünya çapında kabul edilen modern kriterler belirlenmiştir. Günümüzde PKOS tanı ve sınıflandırmasında, aynı çalışma grubu tarafından 2004 yılında düzenlenmiş olan 'Revize Rotterdam kriterleri' kullanılmaktadır (9). Tanı kriterlerindeki üç özelliğin olup olmamasına göre PKOS dört fenotip olarak sınıflandırılmaktadır (Tablo 1).

Sendromun tanısı ve fenotipleri hakkında araştırmalar devam ederken 2006 yılında Androgen Excess Society (AES) tarafından PKOS tanısı için aşağıdaki kriterler öne sürülmüştür. Diğer kriterlerde olduğu gibi başka etiyolojik nedenler dışlandıktan sonra (Konjenital adrenal hiperplazi, adrenal tümör, cushing sendromu, vb.);

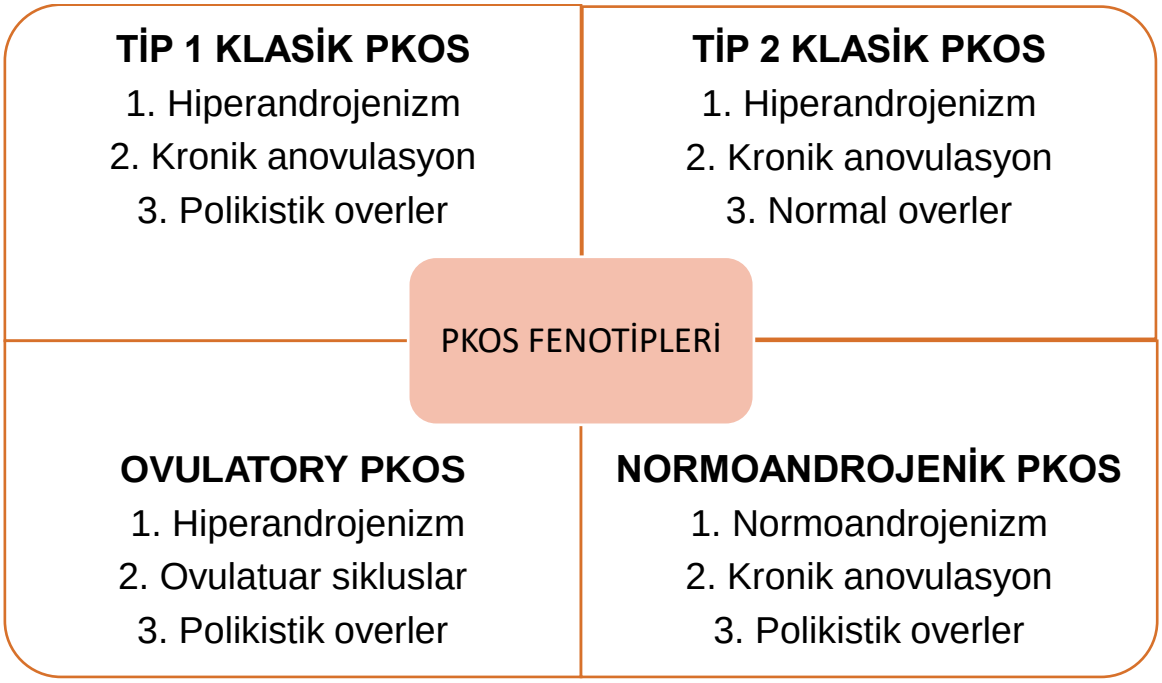
1. Klinik ve/veya hiperandrojenizm bulguları
2. Ovaryan disfonksiyon (oligo-anovulasyon ve/veya polikistik overler)

Tablo 1: PKOS kriterleri



*Konjenital adrenal hiperplazi, Cushing sendromu, androjen salgılayan tümörler, hiperprolaktinemi, tiroid hastalıkları, ilaçların indüklediği androjen fazlalığı, anovulasyonun diğer nedenleri dışlandıktan sonra

Tablo 2: PKOS fenotipleri



2.1.2. Patofizyoloji

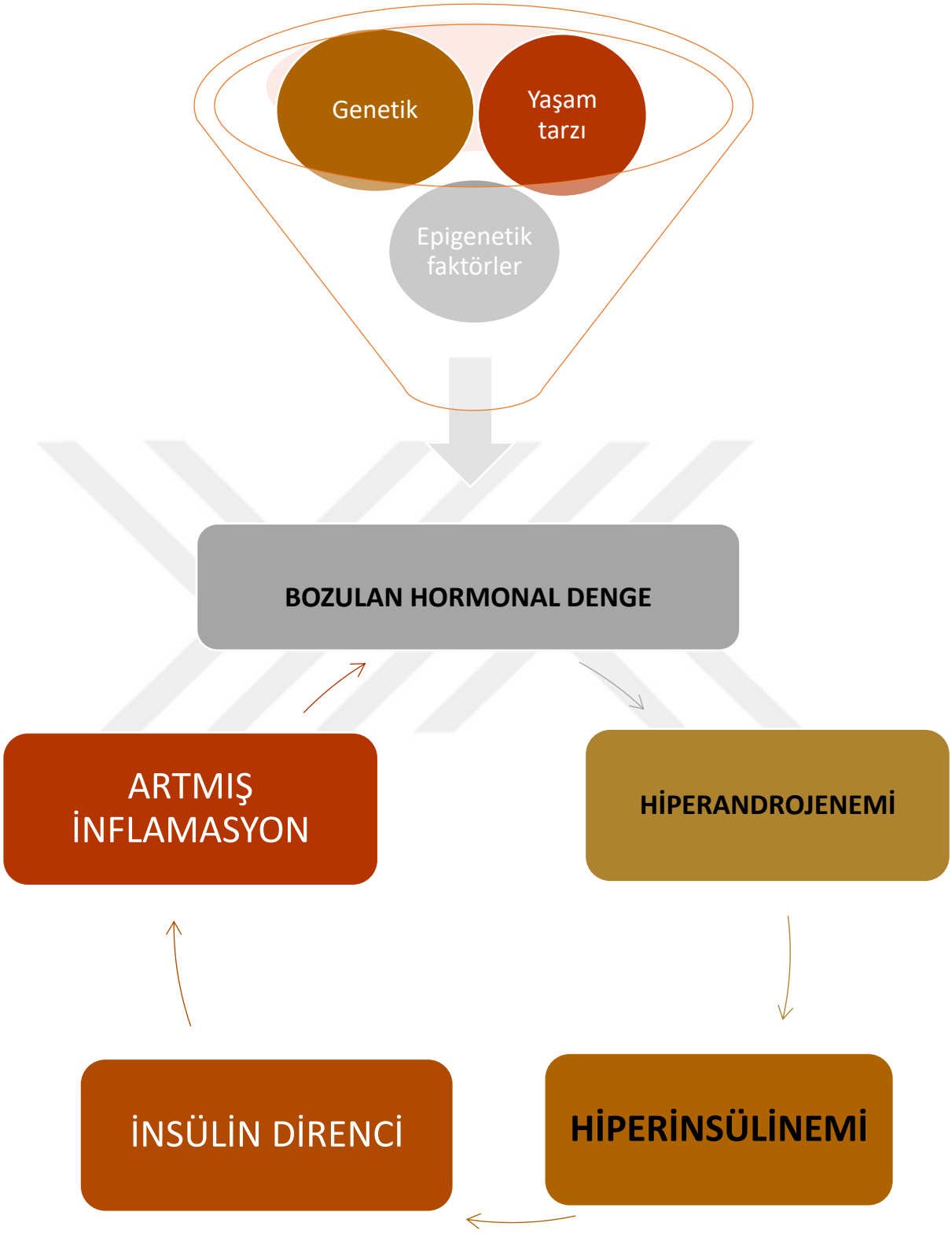
PKOS etyopatogenezi net olarak bilinmemekle birlikte genetik ve çevresel faktörlerin aditif etkileriyle ortaya çıkan karmaşık heterojen bir bozukluktur. Patofizyolojisinde çok sayıda hipotez ortaya sürülmüş ve ortaya çıkan gonadotropin dengesindeki değişiklikler, steroidogenez sekresyonundaki bozukluklar, insülin sentezindeki artış, sendromun altında yatan temel sebepler olarak gösterilmektedir. PKOS'lu hastalarda gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) pulsasyonundaki artış sonucu hipofizden salgılanan Luteinleştirici Hormon (LH) düzeyi artmıştır. Bunun sonucunda yükselen LH teka hücrelerinden androjen salınımına neden olmakta ve sonucunda hiperandrojenizmin klinik bulguları ortaya çıkmaktadır (10).

Artan LH seviyesi overlerde androjen üretimini stimüle etmesiyle overlerdeki folikül gelişimi yavaşlama ve duraklama ile sonuçlanmaktadır. Androjen sentezindeki artışla ortaya çıkan steroid dinamiğindeki bozulma hem folikül çevresinde hem de serumda inflamasyonu artırmaktadır. PKOS'ta inflamasyonun bir göstergesi olarak serumda direk olarak yüksek saptanan inflamasyon belirteçleri saptanmıştır (11). Yine Xiong Y. ve ark. yaptığı çalışmada PKOS'lu hastalarda serum C-Reaktif Protein (CRP), lenfositler, monositler, Tümör Nekrozis Faktör-alfa (TNF-α) ve interlökin-6 (IL-6) gibi inflamatuar belirteçlerinin kontrol grubuna göre artmış olduğunu bildirmişlerdir (12).

PKOS'ta altta yatan bir başka olay hiperinsülinemi ve insülin direncidir. İnsülin, aynı zamanda adrenokortikotropik hormon (ACTH) salınımına yol açarak adrenal bezlerden androjen sekresyonunun artmasına neden olur (13). Artan androjen seviyesiyle insülin direnci daha da kötüye giderek hiperinsülinemiyle sonuçlanmakta ve hiperandrojenizme yol açarak kısır döngü ile devam etmektedir (14).

Genetik faktörlerin de sendromun gelişmesinde önemli rol oynadığı düşünülmüş ve yapılan çalışmalarla kromozomlarda belirli gen lokusları PKOS hastalarında mutant olarak saptanmıştır (15).

Tablo 3: PKOS patofizyolojisinin şematik anlatımı



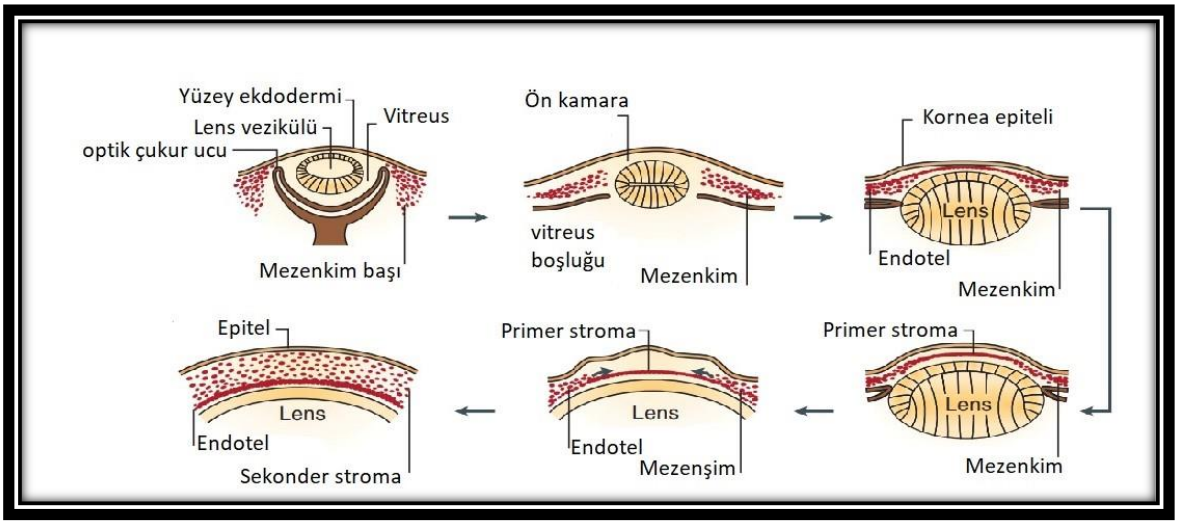
2.2. Kornea

2.2.1. Kornea Anatomisi

Kornea göz küresinin anterior 1/6 kısmını oluşturan, yapısal bir bariyer görevi gören, şeffaf ve avasküler bir dokudur. Erişkin bir insanda korneanın horizontal çapı yaklaşık 11-12 milimetre (mm), vertikal çapı ise yaklaşık 9-11 mm'dir. Konveks ve asferik bir yapıya sahip olan korneanın anterior eğrilik çapı 7.8 mm, posterior eğriliği ise ortalama 6.5 mm'dir. Normal bir gözün toplam kırma gücü 58.6 diyoptri (D) dir ve kornea bu kırma gücünün % 74' üne (43.25 D) sahiptir. Kırılma indeksi 1.376 dır. Santralden perifere doğru kornea kalınlığında giderek bir artış izlenir. Bu farklılık, periferik stromadaki kollajen miktarının artışından kaynaklanır (16).

2.2.2. Kornea Embriyolojisi

Gestasyonun 5. haftasında yüzey ektoderminin lens vezikülünden ayrılması sonucu kornea epiteli oluşumuyla kornea gelişmeye başlar. Altıncı haftada yüzey ekdodermi ile ayrılan lens vezikülü arasına giren nöral krest kökenli mezenşim hücreleri endoteli oluşturur. Periferden epitel ve endotel tabakasının arasındaki boşluğa göç eden mezenşimal hücreler stroma tabakasının öncü hücreleridir. Altıncı hafta sonunda biriken mezenşimal kaynaklı hücrelerin içinde bir boşluk gelişmeye başlar ve oluşan bu mezoderm tabakasının boşluk önünde kalan kısmı korneal stromal tabakayı, arka tarafındaki hücreler iris stromasını oluşturmaktadır. Arada kalan boşluktan ise ön kamara meydana gelmektedir. On ikinci haftada endotel hücre tabakasından Descemet membranı oluşumu gerçekleşmektedir. Dördüncü ayın sonunda ise primer stromanın asellüler kısmı olan Bowman tabakası oluşmaktadır. Özetlemek gerekirse; kornea keratosit ve endotel hücreleri nöral krestten, epitel hücreleri ise ektodermden gelişmektedir (Şekil 1) (17).



Şekil 1: Korneanın embriyonel gelişimi, epitel, stroma ve endotel oluşumu.

2.2.3. Kornea Histolojisi

Histolojik olarak kornea dıştan içe doğru epitel, Bowman tabakası, stroma, Dua tabakası (predesmetik membran), Descemet membranı ve endoteli içerir.

2.2.3.1. Epitel Tabakası

Ortalama 50 µm kalınlığında olan kornea epiteli; santralde 5-7 kat, periferde 7-10 kat non-keratinize stratifiye skuamöz hücre tabakasından oluşmuştur. Hücrelerin şekillerindeki farklılığa bağlı olarak 3 gruba ayrılmıştır. Bunlar yüzeyel hücreler, poligonal kanatsı hücreler ve kolumnar bazal hücrelerdir.

Yüzeyel hücreler; epitelin en dışına yerleşen, 2-3 sıra skuamoz hücre tabakasından oluşmaktadır. Hücrelerin dış yüzeye bakan kısımları mikrovillus içermektedir. Bu mikrovillus tabaka, konjonktival goblet hücreleri tarafından üretilen gözyaşı filminin müsin tabakası tarafından örtülerek hidrofilik yüzeyin oluşmasına katkıda bulunur. Bu sayede kornea yüzeyinde hem müsin tabakanın hem de gözyaşı film tabakasının stabilizasyonunu sağlayarak kaliteli bir optik yüzey oluşumuna yardımcı olur. Yüzeyel hücreler arasında desmozom bağlantıları bulunmaktadır. Bu sıkı bağlantılar ayrıca dış etkenlere ve gözyaşına karşı bariyer görevi de görmektedir (18).

Bazal kolumnar hücreler; epitel tabakasının en altında yaklaşık 20 µm kalınlığında tek sıra halde dizilmiş yer alır. Bazal hücreler hemidesmozomlar aracılığıyla altındaki bazal membrana, desmozomlar aracılığıyla da yan komşu hücrelere bağlanırlar.

Poligonal kanatsı hücreler ise; kolumnar hücrelerin mitotik aktivite ile çoğalarak öne doğru ilerlemesi sonucunda oluşur (19).

Thoft ve ark. korneanın hücre döngüsünü tanımlamak için X-Y-Z hipotezini sunmuşlardır. Bu hipoteze göre epitel hücreleri, korneada periferden santrale doğru, bazal ve kanatsı hücreler ise arkadan yüzeye doğru ilerlediği varsayılmaktadır (20). Limbusta yer alan kök hücreler kornea epitelinin esas kaynağıdır. Bu hücreler periferden santrale doğru göç ederken bölünme yeteneklerini kaybederek bazal hücrelere farklılaşırlar. Daha sonra bu bazal hücreler çoğalır ve yüzeyel epitel hücrelerine dönüşürler. Yüzeyel hücrelerin ömrü ise birkaç gün olup sonrasında gözyaşı film tabakasına dökülmektedir. Her 7-10 günde bir bu hücre döngüsü başa dönmekte ve kornea epiteli yenilenmektedir (21).

2.2.3.2. Bowman Tabakası

Epitel ve stroma tabakası arasındaki Bowman tabakası yaklaşık 12 μm kalınlığında asellüler ve yoğun paketlenmiş kollajen fibril tabakasından oluşan bir tabakadır. Bu kollajen fibrilleri stromaya uzanarak kornea kurvaturunun stabilizasyonunu sağladığı düşünülmektedir (5). Rejenerasyon yeteneği olmadığından zarar görürse skar gelişebilir. Gerçek bir tabaka olmayıp perifere uzanan myelinsiz sinir liflerini içeren kanallar mevcuttur. Epitel ve stroma arasında bariyer olarak mikroorganizma ve tümör hücrelerinin penetrasyonuna engel olduğu düşünülmektedir (22).

2.2.3.3. Stroma

Kornea kalınlığının %90' ını oluşturan yaklaşık 500 μm kalınlıkta olan stroma tabakası kollajen üreten keratositlerden, ara maddeden ve kollajen lamellerinden oluşmaktadır. Daha çok tip 1 kollajen, az miktarda ise tip 3 ve tip 4 kollajen içerir. Kollajen fibriller stromanın ön 1/3' lük kısmında oblik iken, arka 2/3' lük kısmında ise paralel şekilde lameller oluştururlar. Kornea saydamlığı kollajen fibrillerinin dizilimi ve stromanın %78 su içeriği sayesinde sağlanmaktadır. Bu kollajen fibrillerinin birbiri arasındaki düzenli organizasyonu ve aralarındaki mesafenin görülebilen ışığın dalga boyutundan küçük olması nedeniyle ışığın saçılımı azalmaktadır. Keratosit yoğunluğu anterior stromadan posterior stromaya gidildikçe azalmaktadır. Keratositler stromada bulunan ana hücrelerdir ve kollajen liflerin arasını dolduran glikozaminoglikan (GAG) sentezlemektedir. Stromanın esas GAG' ı olan keratan sülfat %50 oranında, kondroitin sülfat ve kondroitin sülfat-A ise %25 oranında

bulunmaktadır. Bu GAG ‘ların esas görevi su homeostazının dengede kalmasını sağlayarak kornea şeffaflığına katkıda bulunurlar (23).

2.2.3.4. Dua Tabakası (Predesmetik Membran)

Dua ve arkadaşları tarafından tanımlanan bu tabaka stroma içine küçük hava kesecikleri enjeksiyonu ile kornea katmanlarının ayrılması sağlandıktan sonra elektron mikroskobuyla incelenerek ortaya konulmuştur. Histolojik olarak Dua tabakası asellüler, ağırlıklı olarak tip 1 kollajenden oluşan yaklaşık 10.15 ± 3.6 mikron kalınlığında güçlü bir tabakadır (24).

2.2.3.5. Descemet Membranı

Kollajen ve kollajen olmayan yapılar içeren descemet membranı esas olarak, tip 4 kollajen, nidojen ve perlekandan oluşmaktadır. Yaklaşık 7 µ kalınlığındaki descemet membranının, yaşla birlikte kalınlığı artabilmektedir. Endotel hücreleri tarafından rejenerasyon ile tekrar salgılanmaktadır. Anatomik olarak iridokorneal açıda sonlanarak Schwalbe çizgisini oluşturmaktadır (16).

2.2.3.6. Endotel Tabakası

4 µ kalınlığında, tek katlı poligonal yapıda hücrelerden oluşan kornea endotelinin hem bariyer hem de iyon transport işlevi bulunmaktadır. Erişkinlerde ortalama hücre yoğunluğu 3000 hücre/mm^2 olup altıgen hücre yüzdesi yaklaşık %75’tir. Merkezi endotel hücre yoğunluğu (yılda ortalama %0.6 oranında azalarak) yaklaşık 8.dekadda 2600 hücre /mm^2 ye düşer. Oküler şeffaflığın devamı için endotel hücre yoğunluğu 500 hücre /mm^2 seviyesinin altı kornea için patolojiktir. Bu seviyenin altında endotel hücre yoğunluğu kornea hidrasyonunun bozulmasına yol açarak korneanın ödemlenmesine ve şeffaflığının bozulmasına yol açar. Bu stromal saydamlığın devamını sağlayan pompa sistemi endotel hücre zarında bulunan sodyum- potasyum adenozin trifosfataz (Na+/K+-ATPaz) kanalları ile beraber su geçişini sağlayan aquaporin kanalları mevcuttur. Diğer bir iyon transport sistemi ise hücre içi karbonik anhidraz yoludur. Endotel hasarı sonucu rejenerasyon kapasitesi olmadığından uygun yapıyı ve işleyişi devam ettirmek için hasarlı bölgeye göç, hücre boyutunda artış (polimegatizm) ve hücre şeklinde varyasyon (pleomorfizm) ile cevap verebilmektedir (17).

2.2.4. Kornea İnnervasyonu

Kornea, vücuttaki en yoğun innerve edilen ve hassas dokulardan biridir. Korneal innervasyon önemli duyusal işlevlere ek olarak, refleks gözyaşı üretimini, göz kırpmayı ve trofik faktörlerin salınımını indükler ve bu sayede oküler yüzeyin yapısal ve işlevsel bütünlüğünü korumaya yardımcı olur. Korneanın duyusal innervasyonu sağlayan sinirler, trigeminal sinirin oftalmik dalının bir parçası olan nazosiliyer sinir ve onun uzun siliyer dalları içerisinde seyreder. Bu dallar limbus çevresinde radyal paternle korneaya yaklaşır ve korneaskleral limbusa girdikten sonra myelin liflerini kaybederek korneayı penetre ederler. Bazal epitel ile Bowman tabakası arasında korneanın yüzeyine paralel uzanır ve üstteki kornea epitelini besleyen subbazal sinir pleksus (SBNP) tabakasını oluşturur. Bu organizasyon sonucunda korneada sinir pleksus tabakasının geniş dallanması sonucu milimetre kare başına yaklaşık 7.000 nosiseptör olan merkezi korneal sinir yoğunluğu ile kornea deriden 300 ila 600 kat daha hassastır (25).

2.2.5. Korneanın Optik Özellikleri

Kornea, 40-44 D kırma gücü ile gözün toplam refraksiyonunun yaklaşık 2/3'ünü sağlayan saydam dokudur. Kırılma indeksi 1.376 olarak kabul edilir. Korneanın yapısı asferik ve dış bükeydir. Sağlıklı bir insan korneasında kalınlık merkezde ortalama 551-565 μm, periferde ise 612-640 μm olup santralden uzaklaşıldıkça kalınlık artmaktadır. Bunun nedeni ise merkezden perifere doğru artan stromal kollajen dokunun yoğunluğudur. Yaşla birlikte kornea kalınlığı azalır. Korneal eğriliğin oluşumunda ve korunmasında ise ön stromal rijidite önemli rol oynar (19).

2.2.6. Kornea Muayene Yöntemleri

Göze ait birçok yapı gibi kornea da klinik pratikte çok sık kullanılan biyomikroskobik muayene ile incelenir. Gözün dış yüzünde bulunan yapılardan kirpik dipleri, tarsal ve bulbar konjonktiva, gözyaşı tabakası, kornea yüzeyi ve katları, ön kamara içeriği, iris, pupilla ve lens ile ön vitreusa kadar olan yapıların tümü çift gözle stereoskopik olarak derinlemesine büyütülerek ve aydınlatılarak muayeneye olanak sağlar. Sodyum florosein boya ile kornea yüzeyi boyanarak kornea epitel defektleri veya gözyaşı kırılma zamanı (GKZ) değerlendirilebilir. Schirmer-I kâğıdı ile gözyaşı hacmi değerlendirilebilir. Aynı zamanda kornea katmanlarını hücresel düzeyde değerlendirmek için konfokal mikroskopi (KM),

speküler mikroskopi (SM) ve optik kohorens tomografi (OKT) gibi cihazlar kullanılmaktadır.

2.2.6.1. Gözyaşı Kırılma Zamanı (GKZ)

Klinik pratikte gözyaşı filmi stabilitesini değerlendirmek için en sık kullanılan test, GKZ'dir. Her göz kırpma ile oküler yüzeye yayılan gözyaşı film tabakası kırpmadan sonra incelmeye ve yer yer kırılmaya başlar. Tam bir göz kırpma sonrası gözyaşı filmindeki ilk kırılmanın ortaya çıkmasına kadar geçen zaman aralığına GKZ denir.

Gözyaşı filminin görünürlüğünü arttırmak için en sık sodyum floresein kullanılır. Floresein uygulandıktan sonra göz kırpma ile gözyaşının homojen şekilde boyanması sağlanır. Tam bir göz kırpma sonrasında ard arda yapılan 3 ölçümün ortalaması alınır. Kırılma alanları, kobalt mavisi veya sarı filtreli bir yarıklı lamba biyomikroskop ile tespit edilir. 10 saniyenin altındaki değerler gözyaşı stabilitesinin azaldığını gösterir.

GKZ, oküler yüzey floresein ile boyanmadan non-invaziv gözyaşı kırılma zamanı ile değerlendirilebilir. Kornea üzerine bir imaj yansıtılır. Göz kırpma ile imajdaki kırılma arasındaki süre belirlenerek gözyaşı kırılma zamanı değerlendirilebilir.

2.2.6.2. Schirmer testi

Gözyaşı miktarını belirlemeye yardımcı olan bir testtir. Kuru göz tanısını koymak için tek başına yeterli olmasa da faydalı bir testtir**.** Schirmer kâğıt şeridi 5 mm genişliğinde, 35 mm uzunluğu olan filtre kâğıtlarından oluşur. Kenarından katlanarak kornea hasarını önlemek amacıyla alt kapağın 1/3 orta ile 1/3 dış hattının birleştiği bölgeye, alt konjonktival fornikse yerleştirilir. Schirmer-I değeri 5 dakikalık bir süreden sonra kâğıdın ıslanan kısmının ölçülen uzunluğudur.

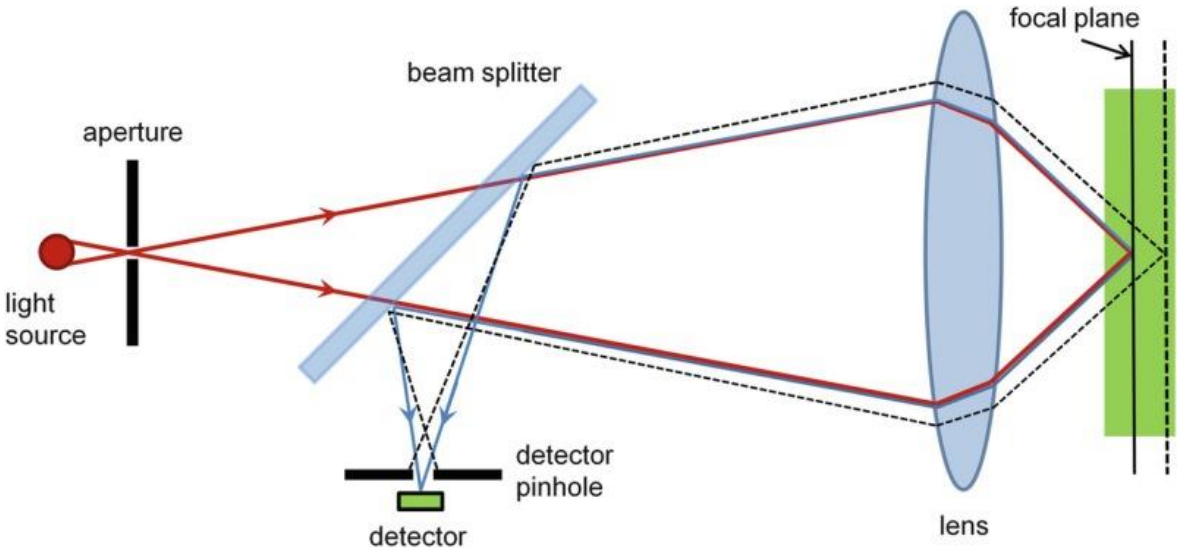
Topikal anestezi uygulanmadan yapılan Schirmer-I testi ile refleks sekresyon değerlendirilir. 5 mm'nin altındaki değerler, aköz gözyaşı yetmezliği olduğunu göstermektedir. Topikal anestezi uygulanarak yapılan Schirmer-II testi, bazal sekresyonu değerlendirir (26). Bu testte oküler yuzeyden alınan duyusal uyarılar engellense de nazolakrimal uyarılar engellenememektedir. Schirmer-II testiyle, konjonktivaya ek olarak nazolakrimal stimulasyon ile oluşturulan refleks sekresyon değerlendirilir.

2.2.6.3. Konfokal Mikroskopi

Konfokal mikroskop (KM) ilk olarak Marvin Minsky tarafından 1957 yılında canlı beyindeki nöral ağı değerlendirmek için geliştirilmiş, daha sonrasında optik prensipli KM şekillendirilmiş ve kullanılmaya başlanmıştır. Kesitsel tarama prensibine dayanan IVKM, kornea tabakalarının morfolojik, niteliksel ve niceliksel olarak in vivo incelenmesine olanak sağlar ve bu katmanların hastalıklarının tanı ve takibinde kullanılır (27).

Konvansiyonel biyomikroskop görüntüde 40 kat büyütme imkânı sağlanmaktadır, ancak görüntü çözünürlüğü en fazla 20 µm olduğundan büyütme arttırıldıkça görüntü netliği bozulmaktadır. Büyütme arttırıldığında çözünürlüğün azalmasına bağlı olarak görüntü kontrastı da azalır. Ayrıca konvansiyonel ışık biyomikroskobunda elde ettiğimiz görüntüler sadece odak düzleminden değil, muayene edilen düzlemin hemen önündeki ve arkasındaki düzlemlerden yansıyan ışığı da kapsamaktadır. Bu nedenle görüntüler üst üste çakışır ve görüntüdeki yapıların detayları bozulur (28, 29).

Monokromatik ışık kaynağı, dikroik ayna, iğne deliği, foton çarpıcı ve emisyon filtreleri KM'nin temel sistemini oluşturmaktadır. ''Ortak odaksal nokta'' anlamına gelen konfokal kelimesinin prensibinden yola çıkılarak tasarlanan KM, aydınlatma (kondansör) ve gözlem (objektif) sistemlerinin tek bir noktaya odaklanmasını sağlamaktadır. Mikroskopta odaklanan ışık iğne deliği sisteminden geçerek merceğe, oradan da dokuya yansıtılır. Dokudan yansıyan ışık paralel bir mercekten ve ayrı bir iğne deliği sisteminden geçerek detektörde toplanır. Böylece odak düzlemi dışından yansıyan ışınların gözlemciye ulaşması sınırlandırılmış olmaktadır. Konvansiyonel KM'de lateral çözünürlük 1-2 µm, aksiyel çözünürlük 5-10 µm düzeyindedir, bu da 600 kata kadar büyütme sağlamaktadır (28, 29).



Şekil 2: Konfokal lazer mikroskobunun çalışma prensibi – Gramatikov ve ark.'dan (30) alınmıştır.

Ön segment yapılarını incelemek için öncelikle tandem taramalı konfokal mikroskoplar kullanılmıştır. 1968 yılında Petrán ve Hadravský tarafından geliştirilen Tandem Tarayıcı KM (Tandem Scanning KM, Advanced Scanning Corp, New Orleans, ABD) sistemi, ardı ardına tarama yapan mikroskoba yerleştirilen bir Nipkow diski ile tasarlanmıştır. Korneayı tarayan noktasal bir ışık kaynağı ve çözünürlüğü artırmak için noktasal bir detektör mevcuttur. Stabil, güvenilir ve yüksek hızlı bir Nipkow diski gereklidir. Ancak, Nipkow diskinin manuel olarak ayarlanması ölçüm sırasında vakit kaybettirir (31).

Yarıklı Tarayıcı Konfokal Mikroskop (YTKM), Maurice tarafından 1974'te geliştirilmiştir. Noktasal ışık kaynağı yerine dönen bir yarık açıklık ile birlikte beyaz ışık veya lazer ışığı kullanılmıştır. Daha iyi çözünürlük ve kontrastta görüntü sağlanırken, dezavantaj olarak incelenen alan genişliği küçülmüştür (32). YTKM olan ConfoScan 4 cihazı (Nidek Tech, Vigonza, İtalya) halojen bir lamba ve korneanın tam kat taranmasını sağlayan lateral çözünürlüğü 1 µm, derinlik çözünürlüğü ise 10 µm olan non-kontakt bir cihazdır. Tarama hızı 25 kare/saniyedir (33).

Lazer tarayıcı konfokal mikroskop (LTKM) çeşitli dalga boylarında koheran olan lazer ışını kullanılarak tasarlanmış ön segment görüntüleme için kornea modülü ile mekano-optik tarama mekanizması içeren bir sistemdir. 2000 yılının başlarında Stave ve ark. Rostock Heidelberg Retina Tomografi II cihazı ile Rodstock Kornea modülü (RCM/HRTII, Heidelberg Eng, Almanya) kombinasyonunu geliştirerek 1 µm'den küçük çaplı lazer

odakları oluşturan 2004 yılında kullanıma giren Rostock Kornea Modülünü (RCM) geliştirilmiştir.

HRT 3- Rostock Kornea Modülünde, 670 nm kırmızı dalga boyunda diod lazer ışığı kullanılır. Klasik olarak 63x objektif lensi kullanılır ve 400 µm x 400 µm boyutlarında görüntü elde edilir. Optik çözünürlük vertikalde 2 µm, horizontalde 4 µm olup dijital çözünürlük vertikal ve horizontalde 1 µm/pixel'dir. Hücresel düzeyde alınan görüntülerin düzenlenmesi cihaza bağlı bir CCD (charge-coupled device) kamera (640x480 pixel) ile sağlanır. Yüksek görüntü çözünürlüğü ve kolay kullanımı ile HRT 3-Rostock Kornea Modülü sadece korneanın değil limbus, konjonktiva ve sklera gibi komşu dokuların da incelenmesini sağlamaktadır (34).



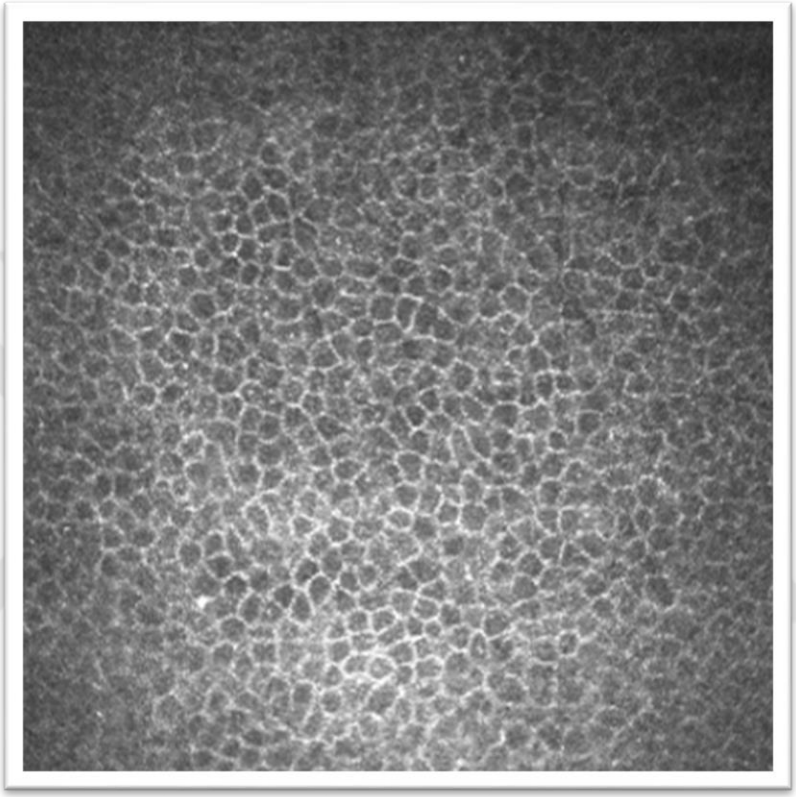
Şekil 3: Kliniğimizdeki konfokal mikroskop görüntüsü (Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Kliniği Kornea Birimi arşivinden alınmıştır)

2.2.6.4. Normal Korneanın Konfokal Mikroskopik Analizi

KM, ex vivo histolojik kesitlerle karşılaştırılabilir görüntüler sağlayan hücresel düzeyde kornea değerlendirmesi için giderek daha fazla kullanılan bir tetkiktir.

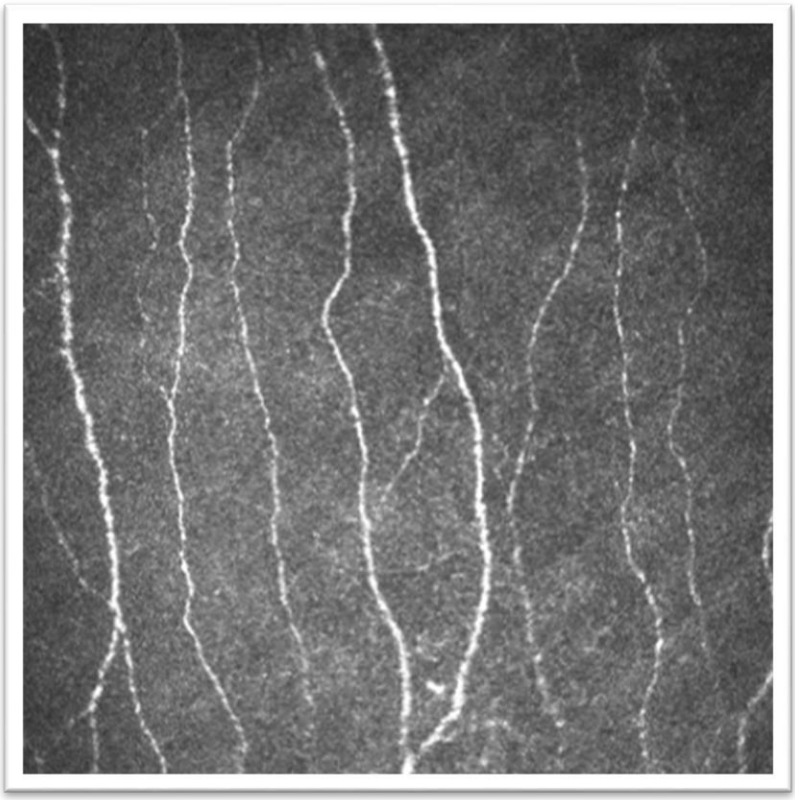
Kornea epiteli; yüzeysel epitel hücreleri, kanat hücreleri ve bazal epitel hücrelerinden oluşur. Yüzeysel epitel hücreleri yaklaşık 40 µm boyutundadır. IVKM kesitinde yüzeysel epitel hücreleri parlak hücre sınırları ve çekirdekleri olan çokgen şeklinde

görünmektedir. Kanat hücreleri yaklaşık 20 µm boyutta olup IVKM görüntülemelerinde hücre sınırları ve çekirdekleri parlak görünümdedir. Bazal epitel hücreleri daha küçük bir çapta (8-10 µm) ve düzenli mozaik görünümündedir, hücre gövdeleri koyu olması nedeniyle çekirdekleri seçilemez (Şekil 4) (34). Harrison ve ark. sağlıklı insan kornealarında yaptıkları çalışmada, ortalama bazal epitel hücre dansitesini 5274±575 hücre/mm2, ortalama hücre alanını 192±19.6 m2 olarak bildirmişlerdir (35).



Şekil 4: KM kornea bazal epitel hücre tabakasının görüntüsü (Çalışmada değerlendirilen kontrol grubu hastalarından alınan kesit örneği)

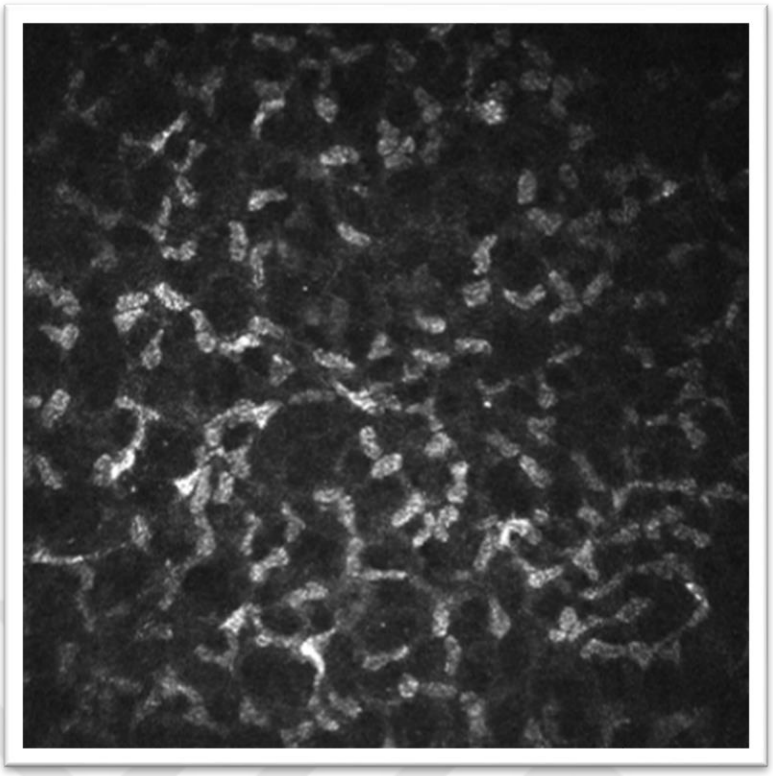
Bowman tabakası; bazal epitelin hemen arkasında yer alan amorf bir zar olarak tanımlanmıştır. Bowman tabakası, kollajen liflerinden oluşur ve miyelinsiz c-sinir liflerinin oluşturduğu SBNP tabakasını içerir (Şekil 5) (36). Yaklaşık 10 µm kalınlığındadır, özelliksiz ve gri görünür. SBNP tabakası saat yönünde kornea merkezine doğru ilerler ve inferonazal parasantral alana doğru kıvrılır. SBNP tabakası kornea yüzeyinden ortalama 293 ± 106 µm derinlikte yer almaktadır (37).



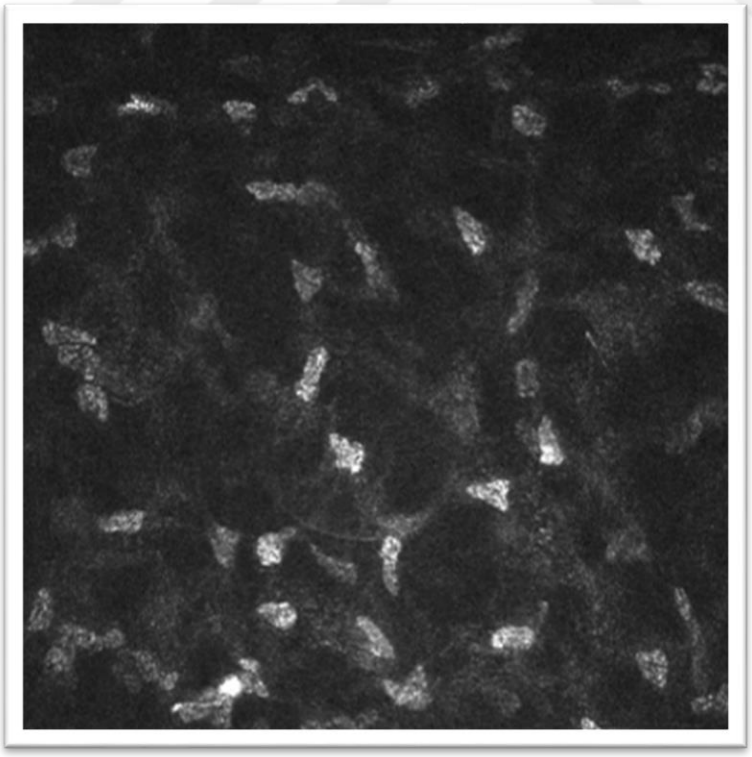
Şekil 5: KM kornea subbazal sinir pleksus tabakasının görüntüsü (Çalışmada değerlendirilen kontrol grubu hastalarından alınan kesit örneği)

***Stroma*;** korneanın kalınlığının %90'ını oluşturur ve kollajen lifler, interstisyel madde ve keratositlerden oluşur. Kollajen lifleri ve interstisyel madde şeffaftır ve KM görüntülerinde; gri amorf arka planını oluşturur. Keratosit çekirdekleri 5-30 μm çapındadır; ön stromada fasulye benzeri (Şekil 6), arka stromada oval şekile sahiptir (Şekil 7). Gri bir arka plana karşı keratosit çekirdekleri hiperreflektiviteleri ile dikkat çekmektedir. Stoplazma, hücre duvarları ve ekleri görüntülenemez.

Myelinli sinir lifleri ön stromada görülebilir, ancak Bowman tabakasındaki sinirlerin aksine, yönelimleri ve boyutları oldukça değişkendir ve bu da incelemeyi zorlaştırır (36). Yapılan bir çalışmada ön stroma 765±262 hücre/mm^2, arka stroma 315±57,2 hücre/mm^2 değerlendirilmiştir ve yaşla beraber keratosit sayısında azalma olduğu gösterilmiştir (38). Ülkemizde yapılan bir çalışmada da ortalama ön stromal keratosit dansitesi 795±151 hücre/mm^2, arka stromal keratosit dansitesi 318±56 hücre/mm^2 olarak literatürdeki çalışmalara benzer sonuçlar saptanmıştır (39).



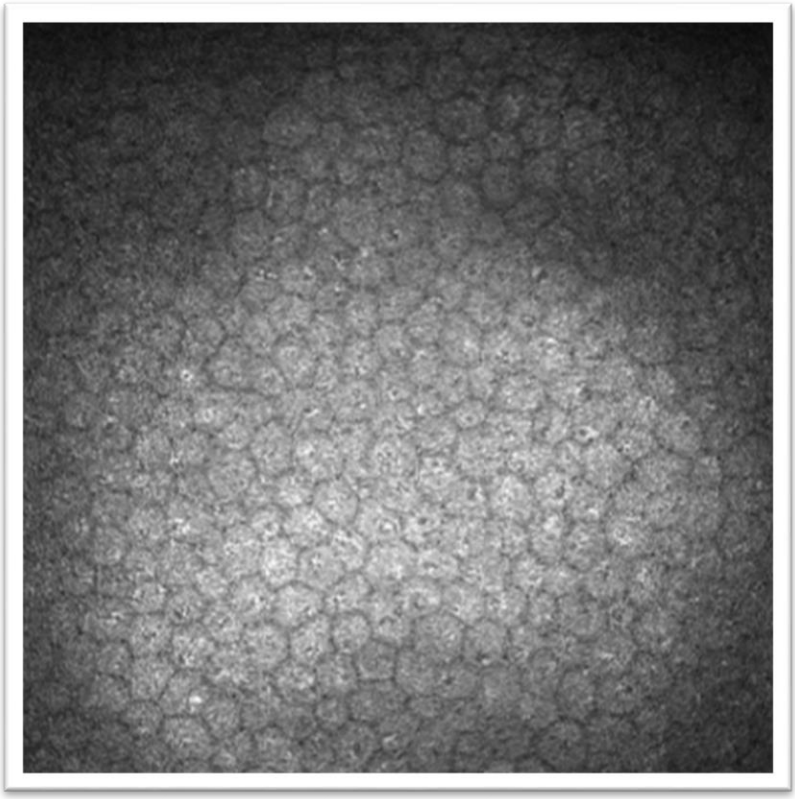
Şekil 6: KM kornea ön stromal keratositlerin görüntüsü (Çalışmada değerlendirilen kontrol grubu hastalarından alınan kesit örneği)



Şekil 7: KM kornea arka stromal keratositlerin görüntüsü (Çalışmada değerlendirilen kontrol grubu hastalarından alınan kesit örneği)

***Descemet zarı*;** posterior stroma ile endotelyum arasında hücresiz bir tabaka olarak görünür. Puslu bir görünüme sahiptir ve yaş ilerledikçe daha görünür hale gelir. Bowman tabakasından farklı olarak, sinir lifi içermez. Normal kornealarda net olarak görüntülenmesi kolay değildir (34).

***Endotel tabakası*;** 4-6 μm kalınlığında ve 20 μm çapında, altıgen veya poligonal şekilde hücrelere sahiptir. Tek endotelyal hücre katmanından oluşur ve koyu hücre sınırlarına sahip parlak hücre gövdeleri olarak konfokal mikroskopi ile kolayca tanımlanabilir. Hücre çekirdekleri nadiren tanınabilir ve hücresel gövde açıkça tanımlanmış sınırlarla homojen bir şekilde parlaktır.



Şekil 8: KM endotel hücre tabakasının görüntüsü (Çalışmada değerlendirilen kontrol grubu hastalarından alınan kesit örneği)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na başvuran, PKOS tanısı alan veya PKOS ile takip edilen, başka ek hastalık saptanmayan 18-35 yaş arası 41 PKOS hastası dâhil edildi. Kontrol grubu ise aynı yaş aralığında herhangi bir sistemik hastalığı bulunmayan refraktif muayene, sağlık kurulu ve genel kontrol amaçlı Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Göz hastalıkları Kliniği'ne başvuran hastalardan uygun kriterdeki 22 olgu çalışmaya dâhil edildi.

Çalışma prospektif-randomize ve karşılaştırmalı olarak planlandı. Çalışma için etik kurul onayı Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan 01.04.2022 tarihli 2022/3719 karar sayısı ile alındı. Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı ve Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Nisan 2022-Kasım 2022 tarihleri arasında yapıldı. Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi'ne göre yürütüldü ve çalışmaya katılan hasta ve sağlıklı gönüllülerden Helsinki Bildirgesi'ne uygun aydınlatılmış yazılı onam alındı.

3.1. Hasta ve Gönüllülerinin Seçimi

Hasta grubu, Nisan 2022-Kasım 2022 tarihleri arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniğine başvuran 20-35 yaş arası PKOS hastalarından oluşturuldu.

Çalışmaya alınma kriterleri aşağıda tanımlandığı şekilde belirlendi.

- ✓ Rotterdam kriterlerine göre PKOS tanısı alan veya PKOS ile takipli 18-35 yaş arası 41 kadın hasta
- ✓ Yaş aralığı vaka grubu ile uyumlu menstruasyon düzensizliği ve sistemik hastalığı olmayan 22 sağlıklı olgu kontrol grubu dâhil edildi.

Çalışma dışı bırakılma kriterleri

- ✓ Sferik ekivalan değerinin +4 veya -4'den büyük olması, optik nöropati, glokom, optik disk anomalisi, vitreoretinal ara yüzey hastalığı, retinanın damarsal veya dejeneratif hastalığı, ambliyopi, şaşılık, üveit, kapak ve kirpik deformitesi olan hastalar
- ✓ Sistemik/otoimmun/oküler hastalık sahibi olan, gebelik mevcudiyeti, oküler travma ve geçirilmiş cerrahi öyküsü olan, eşlik eden kornea patolojisi ya da

korneal skar bulunan veya kontakt lens kullananlar, sistemik veya topikal ilaç kullanım öyküsü olanlar (PKOS tedavisi için kullanılanlar hariç)

- ✓ Uyumsuz hastalar

Tüm grupların sağ gözü çalışmaya dâhil edilmesi planlandı. Sağ göz konfokal mikroskop çekim kalitesi iyi olmayan hastaların, tüm katmanlarının görüntüleri iyi olmak kaydıyla sol gözleri çalışmaya dâhil edildi. Çalışmaya dâhil edilen tüm olguların düzeltilmemiş ve düzeltilmiş görme keskinliği, refraksiyon ölçümü, detaylı ön ve arka segment muayenesi, oküler yüzey hastalık indeks anketi, Schirmer-I testi, gözyaşı kırılma zamanı (GKZ), konfokal lazer tarayıcı mikroskop ile kornea tabakalarının hücresel düzeyde analizi yapıldı.

Testlerin sırası;

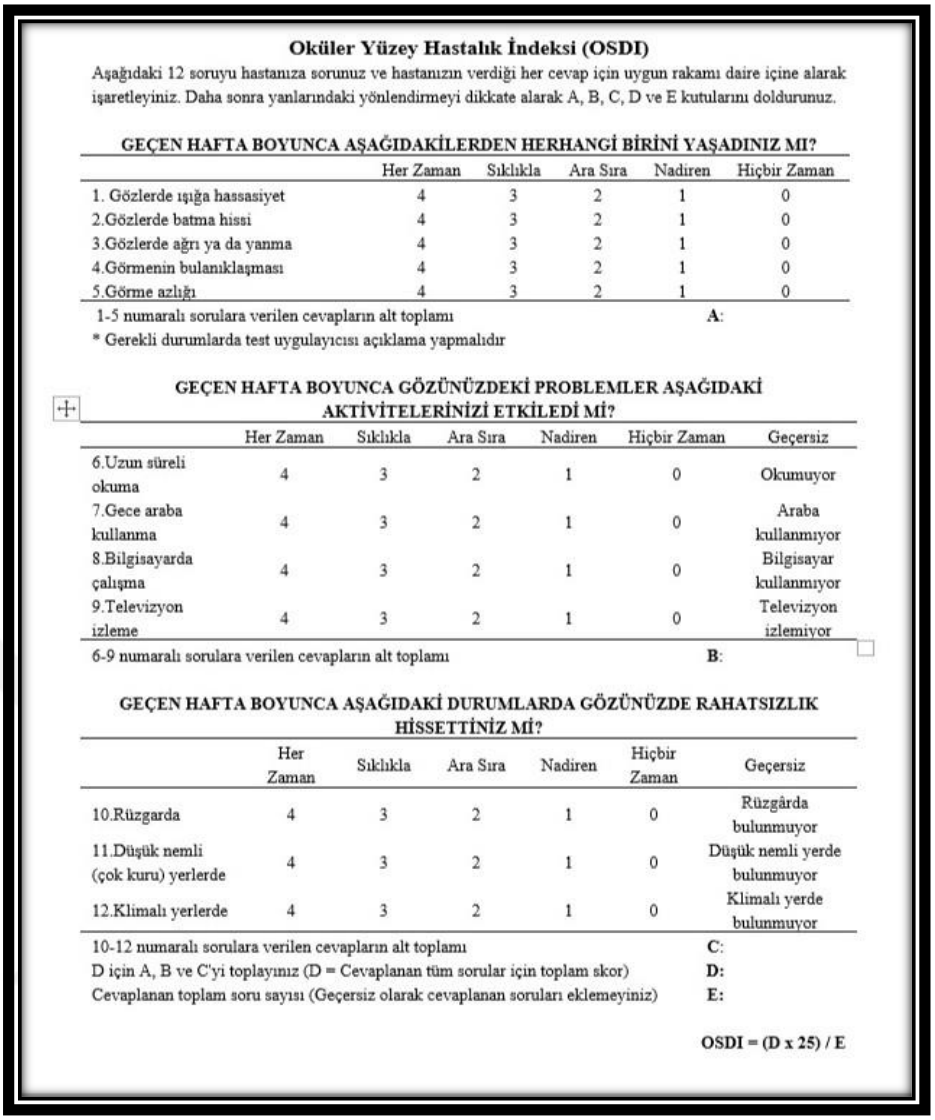
- ✓ Oküler yüzey hastalık indeksi anketi (Ocular Surface Disease Index, OYHİ)
- ✓ Gözyaşı kırılma zamanı (GKZ)
- ✓ Schirmer-I testi
- ✓ Konfokal mikroskop (KM) analizi

Muayeneler ve ölçümler aynı kişi tarafından yapılıp (RB), testlerin aynı ortam ve saatte uygulanılmasına özen gösterildi. Tüm olgulara aynı test sırası uygulanarak, mümkün olduğunca test aralıkları uzun tutulmaya çalışıldı.

3.2. Oküler Yüzey Hastalık İndeksi (=Ocular Surface Disease Index, OYHİ)

OYHİ: Allergan Inc (Irvine, calif) outcomes research group tarafından geliştirilen, kuru göz hastalarının tanı ve tedavisinde kullanılan, kolay uygulanabilen bir ankettir. On iki sorudan oluşan bu anket, aynı zamanda şikâyetlerinin süresi ve şiddetini de sorgulayarak, hastanın son bir hafta içindeki göz kuruluğunun ciddiyetini derecelendirmiş olur. Sorulara verilen cevaplar: 0: Hiçbir zaman, 1: Bazen, 2: Ara sıra, 3: Sıklıkla, 4: her zaman olarak 0-4 puanlık skorlarla değerlendirdiği, hastaların subjektif semptomlarının ciddiyetini ve görme ile ilgili fonksiyon üzerindeki etkilerini belirlemeye yönelik bir ankettir (40).

OYHİ=[(cevaplanan tüm soruların skorlarının toplamı)x25]/[(cevaplanan total soru sayısı) formülü ile hesaplanır. 0-100 arasında puanlanan sonuçlar, skor arttıkça kuru göz hastalığın ciddiyeti de artmış olarak değerlendirilir.



Oküler Yüzey Hastalık İndeksi (OSDI)

Aşağıdaki 12 soruyu hastanıza sorunuz ve hastanızın verdiği her cevap için uygun rakamı daire içine alarak işaretleyiniz. Daha sonra yanlarındaki yönlendirmeyi dikkate alarak A, B, C, D ve E kutularını doldurunuz.

GEÇEN HAFTA BOYUNCA AŞAĞIDAKİLERDEN HERHANGİ BİRİNİ YAŞADINIZ MI?

	Her Zaman	Sıklıkla	Ara Sıra	Nadiren	Hiçbir Zaman
1. Gözlerde ışığa hassasiyet	4	3	2	1	0
2.Gözlerde batma hissi	4	3	2	1	0
3.Gözlerde ağrı ya da yanma	4	3	2	1	0
4.Görmenin bulanıklaşması	4	3	2	1	0
5.Görme azlığı	4	3	2	1	0
1-5 numaralı sorulara verilen cevapların alt toplamı					**A:**

* Gerekli durumlarda test uygulayıcısı açıklama yapmalıdır

GEÇEN HAFTA BOYUNCA GÖZÜNÜZDEKİ PROBLEMLER AŞAĞIDAKİ AKTİVİTELERİNİZİ ETKİLEDİ Mİ?

	Her Zaman	Sıklıkla	Ara Sıra	Nadiren	Hiçbir Zaman	Geçersiz
6.Uzun süreli okuma	4	3	2	1	0	Okumuyor
7.Gece araba kullanma	4	3	2	1	0	Araba kullanmıyor
8.Bilgisayarda çalışma	4	3	2	1	0	Bilgisayar kullanmıyor
9.Televizyon izleme	4	3	2	1	0	Televizyon izlemiyor
6-9 numaralı sorulara verilen cevapların alt toplamı						**B:**

GEÇEN HAFTA BOYUNCA AŞAĞIDAKİ DURUMLARDA GÖZÜNÜZDE RAHATSIZLIK HİSSETTİNİZ Mİ?

	Her Zaman	Sıklıkla	Ara Sıra	Nadiren	Hiçbir Zaman	Geçersiz
10.Rüzgarda	4	3	2	1	0	Rüzgârda bulunmuyor
11.Düşük nemli (çok kuru) yerlerde	4	3	2	1	0	Düşük nemli yerde bulunmuyor
12.Klimalı yerlerde	4	3	2	1	0	Klimalı yerde bulunmuyor
10-12 numaralı sorulara verilen cevapların alt toplamı						**C:**
D için A, B ve C'yi toplayınız (D = Cevaplanan tüm sorular için toplam skor)						**D:**
Cevaplanan toplam soru sayısı (Geçersiz olarak cevaplanan soruları eklemeyiniz)						**E:**

OSDI = (D x 25) / E

Şekil 9: OYHİ anketi

3.3. Gözyaşı Kırılma Zamanı (GKZ)

Hasta biyomikroskopta yerleşik iken alt fornikse uygulanan florosein strip ile gözyaşının boyanması sağlandıktan sonra hastaya birkaç kez göz kırpması söylenerek gözyaşının homojen boyanması sağlandı. Biyomikroskopta geniş ışık huzmeli kobalt mavisi filtre kullanılarak hastanın gözlerini kırpmadan karşı doğrultuda bakması istendi. Bu esnada kobalt filtresi ile gözyaşı tabakası izlenerek son göz kırpma ile gözyaşı bütünlüğünün bozulduğu (gözyaşı filminin kırıldığı) yani ilk siyah alanın görüldüğü arasındaki süre ölçüldü. 10 saniyenin üzerindeki değerler normal kabul edildi, 10 saniyenin altındaki değerler patolojik olarak değerlendirildi.

3.4. Schirmer-I testi

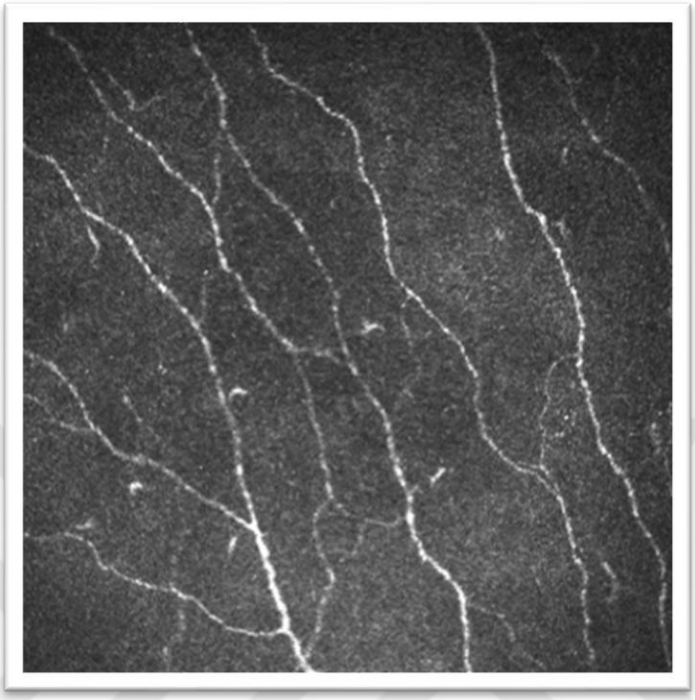
Standartlaştırılmış filtre kâğıt şeritler, korneaya değmemesine dikkat edilerek, her iki gözün dış 1/3 alt kapak kenarına yerleştirildi. Schirmer-I kâğıdı yerleştirildikten sonra kişiden karşıya bakması ve normal şekilde göz kırpması istendi. Beş dakika sonra kâğıt alındı ve ıslanan kısım mm cinsinden ölçüldü. Ölçülen değerler kaydedildi. 10 ve üzerindeki değerler normal, altındaki değerler ise anormal olarak değerlendirildi.

3.5. Konfokal Mikroskopi

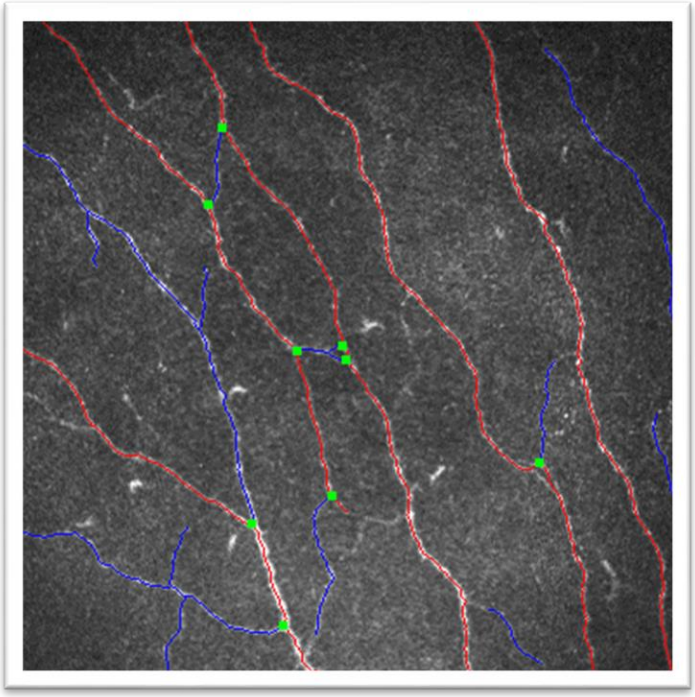
Heidelberg Retina Tomografi 3 (HRT3)/Rostock Kornea Module (RCM) (Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Almanya) cihazıyla konfokal mikroskopi incelemesi gerçekleştirildi. RCM'nin korneaya temas eden objektif lensinin üzerine karbomer içeren jel [Viscotears jel (Novartis, Berlin, Almanya)] konularak PMMA tomocap başlığı takıldı. Her hasta için ayrı ve steril tomocap başlığı kullanıldı. Olgulara işlemden önce bir damla % 0,5'lik proparakain hidroklorid içeren topikal anestezik damla [Alcaine (Alcon Couvreur, Puurs, Belgium)] damlatıldı. Başlığın yüzeyine geniş bir tabaka halinde karbomer jel [Viscotears jel (Novartis, Berlin, Almanya)] sürüldü. Olgunun başı cihaza uygun şekilde yerleştirildikten sonra hastaya çekim aşamasında başının ve gözün hareket etmemesi gerektiği söylenerek sabit durması istendi. Objektif lens santral korneaya yaklaştırıldı. Korneaya başlığın hafif teması sağlanıp bilgisayar monitöründen yüksek kalitede yüzey epitel görüntüleri alınmaya başlandığında objektif lens manuel olarak çevrilerek epitelden endotele doğru tüm kornea katmanlarının görüntüleri alınarak kaydedildi.

Her bir tabakadan netliği en iyi olan iki kesit, görüntü analizi için seçildi. Her bir görüntünün merkezinde sabit bir alan (bazal epitel hücreleri ve endotel için 200x200 μm, keratositler için 300x300 μm) işaretlenerek bu alan içindeki bazal epitel hücreleri, keratositler ve endotel hücrelerinin sayımı yapıldı. Anterior stromal keratosit sayımı için Bowman tabakasından hemen sonraki kesit, posterior stromal keratosit sayımı için Descemet membranı ve endotelden hemen önceki kesit seçildi. İşaretlenen alan içerisindeki hücre sayımı yapılırken seçili alanın sadece üst ve sol yarıdakiler sayıldı. Cihazda mevcut bulunan program kullanılarak hücre dansiteleri hesaplandı. Sinir liflerinin analizi için Automated CCMetrics software, v 2.0 programı (University of Manchester, UK) kullanıldı. Konfokal mikroskop ile ölçüm yapılırken subbazal sinir pleksus tabaka kesit görüntü netliği optimum olmayan 14 PKOS'lu hasta ve 6 kişi kontrol grubundan çıkarıldı. Bu programda her bir olgu için görüntü netliği en iyi olan farklı kesitlerden görüntü seçildi. Görüntüler tam boyutta

(400x400 μm) analiz edilerek sinir lifi dansitesi (major sinir liflerinin sayısı/mm^2) sinir dalı dansitesi (tüm sinir liflerinin ve dallarının uzunluğu toplamı-mm/mm^2) ve sinir dalı dansitesi (major sinir liflerinden köken alan dalların sayısı/mm^2) parametrelerine ulaşıldı.



Şekil 10: Kornea sinir liflerini gösteren şekil örneği (Çalışmada değerlendirilen kontrol grubu hastalarından alınan bir kesit)



Şekil 11: Şekil 10'da örnek olarak gösterilen kornea sinir kesitinin Automated CCMetrics software v 2.0 programı ile otomatik hesaplaması

3.6. İstatistiksel Yöntemler

Verileri SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 18.0 paket programı ile analiz edildi. Tanımlayıcı analizlerde frekans verileri sayı (n) ve yüzde (%) olarak, sayısal veriler aritmetik ortalama±standart sapma (ss), ortanca (min-max) ile verildi. Normal dağılım gösteren sayısal verilerin bağımsız iki grupta dağılımı bağımsız gruplarda T testi ile ikiden fazla grupta dağılımı tek yönlü ANOVA testi ile değerlendirildi. ANOVA testinde varyansların homojenliği değerlendirildi. Post hoc analzinde Bonferoni testi kullanıldı. Sayısal verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro Wilk testleri ile incelendi. Normal dağılım göstermeyen sayısal verilerin bağımsız iki grupta dağılımı Mann Whitney U testiyle, ikiden fazla grupta dağılımı ise Kruskall-Wallis testi ile değerlendirildi. Kruskal Wallis test sonucu anlamlı olan gruplarda post hoc testi için Mann Whitney U testi kullanıldı ve Dunn Bonferoni düzeltmesi yapıldı. Normal dağılan sayısal veriler arasındaki ilişki Pearson Korelasyon analizi ile incelendi. Korelasyon ilişkileri: r =0.05-0.30 ise düşük korelasyon, r=0.30-0.40 ise düşük-orta derecede korelasyon, r=0.40-0.60 ise orta derecede korelasyon, r=0.60-0.70 ise İyi derecede korelasyon, r=0.70-0.75 ise çok iyi derecede korelasyon, r=0.75-1.00 ise mükemmel korelasyon olarak kabul edildi. Konfokal mikroskobi ile ölçülen belirteçlerin PKOS varlığını tahmin etmedeki kesim nokta belirleme özellikleri ROC (Receiver Operating Characteristics) Eğrisi Analizi ile değerlendirildi.

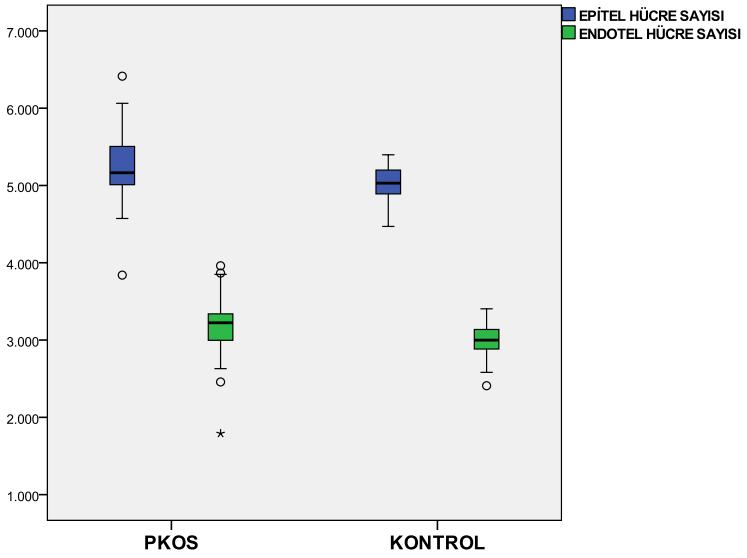
4. BULGULAR

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi'nde yapılan bu çalışmaya 41 PKOS tanısı olan hasta grubu ve 22 kişilik kontrol grubu dâhil edildi. Hasta ve kontrol grubuna ait yaş, ilaç kullanımı ve KM özelliklerinin dağılımı Tablo 4'de sunuldu. Hastaların yaş ortalaması 25.07 ± 4.84 yıl ve kontrol grubunun yaş ortalaması 24.09 ± 3.87 yıl olup istatistik olarak aralarında anlamlı fark yoktu. Hastaların %24.40'nın (n=10) drospirenon ilacı kullandığı belirlendi. PKOS grubunda Schirmer-I ve anterior stromal keratosit düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük tespit edildi (p değerleri sırasıyla; p=0.002; p=0.020). PKOS ve kontrol grupları arasında GKZ skor sonucu dağılımında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark belirlendi (p<0.001). PKOS grubunda GKZ skor sonucu <10 sn olan hasta oranı kontrol grubuna göre daha yüksek tespit edildi. PKOS'lu hastalarda KM ile ölçülen epitel hücre sayısı ve endotel hücre sayısı kontrol grubuna göre istatistiki olarak daha yüksek bulundu (p değerleri sırasıyla; p=0.043; p=0.012). PKOS ve kontrol grupları arasında epitel ve endotel hücre sayılarının dağılımı Şekil 12'de, anterior ve posterior keratositlerin dağılımı Şekil 13'de verildi.

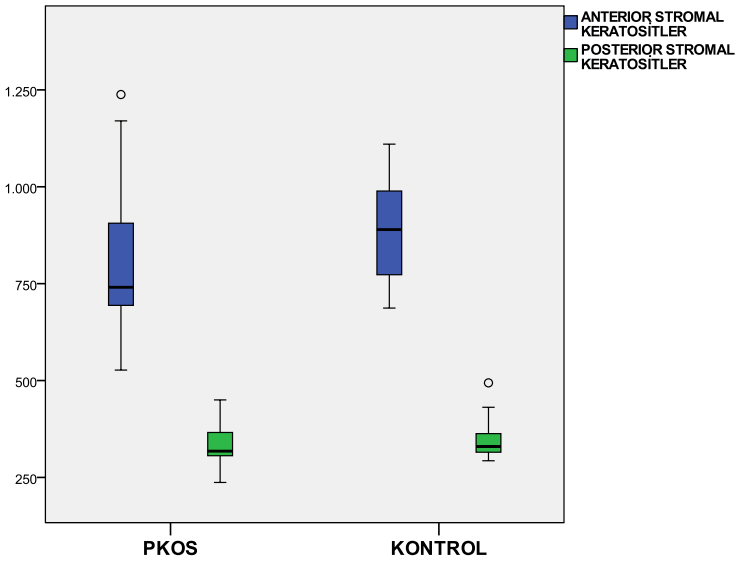
Tablo 4: PKOS ve kontrol grubunun yaş, ilaç kullanımı, OYHİ skoru ve konfokal mikroskopi ile elde edilen parametrelerin karşılaştırılması

	PKOS (n=41)	**Kontrol (n=22)**	**Test Değeri**	**p**
Yaş (yıl)	25.07 ± 4.84 23.00 (18.00-35.00)	24.09 ± 3.87 23.00 (18,00-34.00)	0.515	0.607*
İlaç Kullanımı				
Yok	25 (61.00)	-		
Drospirenon	10 (24.40)	-		
Metformin	3 (7.30)	-	-	-
Didrogesteron	2 (4.90)	-		
Siproteron asetat	1 (2.40)	-		
Göz				
Sağ	28 (68.30)	14 (63.60)	0.140	0.709**
Sol	13 (31.70)	8 (36.40)		
OYHİ skoru	36.18 ± 18.67 35.40 (8.33-75.00)	36.37 ± 17.58 33.33 (13.64-72.91)	0.072	0.943*
Schirmer-I (mm)	11.07 ± 6.44 12.00 (1.00-20.00)	16.95 ± 4.69 16.00 (10.00-25.00)	**3.124**	**0.002***
GKZ (sn)				
<10 sn	24 (58.50)	0 (0.00)	**20.803**	**<0,001****
≥10 sn	17 (41.50)	22 (100.00)		
Epitel Hücre Sayısı	5224.56 ± 462.45 5163.00 (3840.00-6414.00)	5002.73 ± 266.51 5031.00 (4470.00-5397.00)	**2.068**	**0.043*****
Endotel Hücre Sayısı	3174.02 ± 384,50 3222.00 (1791.00-3961,00)	2997.64 ± 235,50 3000.00 (2409.00-3404.00)	**2.502**	**0.012***
Anterior Stromal Keratosit Sayısı	794.80 ± 165,27 741.00 (527.00-1238.00)	892.36 ± 133.36 889.00 (687.00-1110.00)	**2.380**	**0.020*****
Posterior Stromal Keratosit Sayısı	328.56 ± 48.92 318.00 (237.00-450.00)	345.86 ± 49.08 330.00 (293.00-494.00)	1.218	0.223*

OYHİ: Oküler yüzey hastalığı indeksi, **GKZ**: Gözyaşı kırılma zamanı
Ortalama ± Standart Sapma; Ortanca (minimum-maximum); n(%)
*: Mann Whitney U Testi
**: Pearson Ki-kare Testi
***: İndependent Samples T Testi



Şekil 12: PKOS ve kontrol grupları arasında epitel ve endotel hücre sayılarının dağılımı



Şekil 13: PKOS ve kontrol grupları arasında anterior ve posterior stromal keratosit sayılarının dağılımı

Schirmer-I <10mm ve ≥10 mm gruplarına göre ayrılmış PKOS hastaları ve kontrol grupları arasında OYHİ skoru, Schirmer-I testi ve KM verilerinin karşılaştırılması Tablo 5'te verildi. OYHİ skorunun gruplar arasında dağılımında istatistiksel fark belirlendi (p=0.012). Bu fark Schirmer-I<10 mm olan hastalarda OYHİ skorunun Schirmer-I ≥10 mm olan hastalara göre daha yüksek olmasından kaynaklanmaktaydı. GKZ skorunu gruplar arasında dağılımı farklı tespit edildi. Bu fark tüm gruplardaki oranların birbirinden farklı olmasından kaynaklanıyordu. Anterior stromal keratosit düzeyinin gruplar arası dağılımı istatistiki

olarak farklı bulundu (p=0.020). Bu parametredeki fark Schirmer-I <10 mm olan hastalarda kontrol grubuna göre daha düşük olmasından kaynaklanmaktadır.

Tablo 5: Schirmer-I testine göre PKOS ve kontrol grupları arasında OYHİ, GKZ ve konfokal mikroskopi ile elde edilen parametrelerin karşılaştırılması

	PKOS Schirmer-I <10 mm (n=18)	**PKOS Schirmer-I ≥10 mm (n=23)**	**Kontrol (n=22)**	**Test Değeri**	**p**
OYHİ skoru	45.56 ± 20.61 45.64 (14.58-75.00) [a]	28.83 ± 13.31 25.00 (8.33-55.00) [b]	36.37 ± 17.58 33.33 (13.64-72.91) [ab]	**4.813**	**0.012***
GKZ (sn) **<10 sn** **≥10 sn**	 16 (88.90) 2 (11.10) [a]	 8 (34.80) 15 (65.20) [b]	 0 (0.00) 22 (100.00) [c]	**33.338**	**<0.001****
Epitel Hücre Sayısı	5302.39 ± 433.13 5197.00 (4602.00-6414.00)	5163.65 ± 484.80 5084.00 (3840.00-5948.00)	5002.73 ± 266.51 5031.00 (4470.00-5397.00)	4.651	0.098***
Endotel Hücre Sayısı	3238.06 ± 303.16 3270.50 (2458.00-3850.00)	3123.91 ± 437.96 3116.00 (1791.00-3961.00)	2997.64 ± 235.50 3000.00 (2409.00-3404.00)	2.492	0.091*
Anterior Stromal Keratosit Sayısı	772.78 ± 167.89 708.00 (527.00-1098.00) [a]	812.04 ± 164.84 780.00 (539.00-1238.00) [ab]	892.36 ± 133.36 889.00 (687.00-1110.00) [b]	**3.138**	**0.020*****
Posterior Stromal Keratosit Sayısı	336.72 ± 52.87 326.00 (237.00-450.00)	322.17 ± 45.76 316.00 (239.00-428.00)	345,86 ± 49,08 330.00 (293.00-494.00)	2.549	0.280***

OYHİ: Oküler yüzey hastalığı indeksi, **GKZ**: Gözyaşı kırılma zamanı
Ortalama ± Standart Sapma; Ortanca (minimum-maximum); n(%)
Aynı satırlarda yer alan farklı harfler gruplar arası istatistiksel farklılığı ifade etmektedir.
*: One Way Anova Testi
**: Pearson Ki-kare Testi
***: Kruskal Wallis Testi

GKZ skoru <10 sn ve ≥10 sn gruplarına göre ayrılmış PKOS hastaları ile kontrol grubu arasında OYHİ skoru, Schirmer-I testi ve KM verilerinin karşılaştırılması Tablo 6'te sunuldu. Schirmer-I skorunun gruplar arasında dağılımında istatistiksel fark belirlendi (p<0.001). Bu fark GKZ <10 sn olan hastalarda Schirmer-I skorunun diğer gruplara göre daha düşük olmasından kaynaklanmaktaydı. Anterior stromal keratosit düzeyinin gruplar arası dağılımı istatistiki olarak farklı tespit edildi (p=0.018). Bu parametredeki fark GKZ ≥ 10 sn olan hastalarda kontrol grubuna göre anterior stromal keratosit düzeyinin daha düşük olmasından kaynaklanmaktadır.

Tablo 6: GKZ skoruna göre PKOS ve kontrol gruplarında OYHİ, Schirmer-I testi, konfokal mikroskopi ile elde edilen parametrelerin karşılaştırılması

	PKOS GKZ <10 sn (n=24)	**PKOS GKZ ≥10 sn (n=17)**	**Kontrol (n=22)**	**Test Değeri**	**p**
OYHİ skoru	41.25 ± 20.84 39.23 (8.33-75.00)	29.01 ± 12.40 25.00 (12.50-52.08)	36.37 ± 17.58 33.33 (13.64-72.91)	2.359	0.103*
Schirmer-I (mm)	8.46 ± 6.00 7.00(1.00-20.00)[a]	14.76 ± 5,22 16.00 (1.00-20.00)[b]	16.95 ± 4.69 16.00 (10.00-25.00)[b]	**15.469**	**<0.001***
Epitel Hücre Sayısı	5215.33 ± 400.37 5141.00 (4579.00-6414.00)	5237.59 ± 551.28 5329.00 (3840.00-6063.00)	5002.73 ± 266.51 5031.00 (4470.00-5397.00)	3.960	0.138**
Endotel Hücre Sayısı	3230.54 ± 317.00 3259.50 (2458.00-3866.00)	3094.24 ± 462.170 3116.00 (1791.00-3961.00)	2997.64 ± 235.50 3000.00 (2409.00-3404.00)	2.743	0.072*
Anterior Stromal Keratosit Sayısı	828.42 ± 164.96 848.00 (556.00-1238.00)[ab]	747.35 ± 158.37 715.00 (527.00-1170.00)[a]	892.36 ± 133.36 889.00 (687.00-1110.00)[b]	**4.315**	**0.018***
Posterior Stromal Keratosit Sayısı	333.96 ± 50.40 319.00 (237.00-450.00)	320.94 ± 47.17 316.00 (239.00-397.00)	345.86 ± 49.08 330.00 (293.00-494.00)	1.694	0.429*

OYHİ: Oküler yüzey hastalığı indeksi, **GKZ**: Gözyaşı kırılma zamanı
Ortalama ± Standart Sapma; Ortanca (minimum-maximum); n(%)
Aynı satırlarda yer alan farklı harfler gruplar arası istatistiksel farklılığı ifade etmektedir.
*: One Way Anova Testi
**: Kruskal Wallis Testi

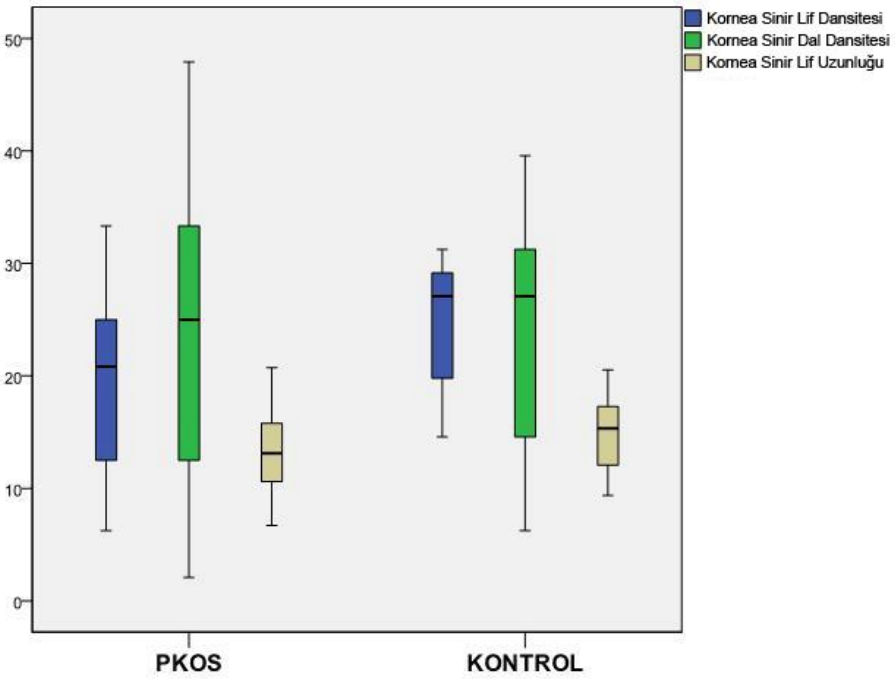
Konfokal mikroskop ile ölçüm yapılırken bazı hastaların sinir lifi analiz kesitlerinin optimum olmadığı görüldü ve sinir lifi kesit görüntü kalitesi optimum olmayan 14 PKOS'lu hasta ve 6 kontrol çıkarılarak değerlendirildi. Kesitler ile ilgili veriler Tablo 6, 7 ve 8'de incelendi.

PKOS ve kontrol grupları arasında dentritik hücre sayısı ve sinir lif tabakası ölçümlerinin dağılımı Tablo 7'da listelendi. PKOS grubunda dendritik hücre sayısı kontrol grubuna göre istatistiki olarak daha yüksek, kornea sinir lif dansitesi daha düşük tespit edildi (p değerleri sırasıyla; p<0.001; p=0.044). Hasta ve kontrol grubunda kornea sinir lif dansitesi, kornea sinir dal dansitesi ve kornea sinir lif uzunluğu dağılımı Şekil 14'te verildi.

Tablo 7: PKOS ve kontrol grubununda konfokal mikroskopi ile değerlendirilen SBNP tabakasından elde edilen parametrelerin karşılaştırılması

	PKOS (n=27)	**Kontrol (n=16)**	**Test Değeri**	**p**
Dentritik Hücre Sayısı	88.83 ± 59.63 20.83 (6.25-33.33)	19.77 ± 13.48 18.33 (2.33-45.33)	**5.758**	**<0.001***
Kornea Sinir Lif Dansitesi	19.98 ± 7.64 20.83 (6.25-33.33)	24.71 ± 5.72 27.08 (14.58-31.25)	**2.017**	**0.044****
Kornea Sinir Dal Dansitesi	23.60 ± 3.59 13.11 (6.70-20.73)	24.44 ± 10.18 27.08 (6.25-39.58)	0.212	0.833*
Kornea Sinir Lif Uzunluğu	13.34 ± 3.59 13.11 (6.70-20.73)	14.88 ± 3.13 15.33 (9.37-20.53)	1.387	0.173*

Ortalama ± Standart Sapma; Ortanca (minimum-maximum); n(%)
*: İndependent Samples T Testi **: Mann Whitney U Testi



Şekil 14: PKOS ve kontrol grupları arasında kornea sinir lif dansitesi, kornea sinir dal dansitesi, kornea sinir lif uzunluğu dağılımları

Schirmer-I <10mm ve ≥10 mm gruplarına göre ayrılmış PKOS hastaları ve kontrol grupları arasında dentritik hücre sayısı ve sinir lif tabakası ölçümlerinin karşılaştırılması Tablo 8'de sunuldu. Dendritik hücre sayısının gruplar arasında dağılımında istatistiksel fark görüldü ($p<0.001$). Dendritik hücre sayısı Schirmer-I <10 mm olan grupta diğer gruplara kıyasla, Schirmer-I ≥10 mm olan hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek tespit edildi. Kornea sinir lif dansitesi, kornea sinir dal dansitesi ve kornea sinir lif uzunluğu parametrelerinin gruplar arası dağılımı benzer bulundu ($p>0.05$).

Tablo 8: Schirmer-I testine göre PKOS ve kontrol gruplarında konfokal mikroskop SBNP tabakasından elde edilen parametrelerin karşılaştırılması

	PKOS Schirmer-I <10 mm (n=10)	**PKOS Schirmer-I ≥10 mm (n=17)**	**Kontrol (n=15)**	**Test Değeri**	**p**
Dentritik Hücre	130.38 ± 55.86 115.86 (68.60-223.60)[a]	64.39 ± 48.07 46.30 (9.00-177.60) [b]	19.77 ± 13.48 18.33 (2.33-45.33) [c]	**24.935**	**<0.001***
Kornea Sinir Lif Dansitesi	17.29 ± 7.54 17.70 (6.25-29.16)	21.56 ± 7.47 22.92 (10.42-33.33)	24.71 ± 5.72 27.08 (14.58-31.25)	5.742	0.057*
Kornea Sinir Dal Dansitesi	16.87 ± 8.69 12.50 (6.70-18.28)	27.57 ± 13.84 27.08 (2.08-47.91)	24.44 ± 10.18 27.08 (6.25-39.58)	5.748	0.056*
Kornea Sinir Lif Uzunluğu	11.99 ± 3.39 12.00 (6.70-18.28)	14.14 ± 3,57 14.24 (8.38-20.73)	14.88 ± 3.13 15.33 (9.37-20.53)	2.273	0.116**

Ortalama ± Standart Sapma; Ortanca (minimum-maximum); n(%)
Aynı satırlarda yer alan farklı harfler gruplar arası istatistiksel farklılığı ifade etmektedir.
Testi
*: Kruskal Wallis Testi
**: One Way Anova

GKZ skoru <10 sn ve ≥10 sn gruplarına göre ayrılmış PKOS hastaları ile kontrol grubu arasında dentritik hücre sayısı ve sinir lif tabakası ölçümlerinin karşılaştırılması Tablo 9'da verildi. Dendritik hücre sayısının gruplar arasında dağılımında istatistiksel fark görüldü (p<0.001). Dendritik hücre sayısı kontrol grubunda diğer gruplara kıyasla daha düşük tespit edildi. Kornea sinir lif dansitesi, kornea sinir dal dansitesi, kornea sinir lif uzunluğu parametrelerinin gruplar arası dağılımı benzer bulundu (p>0.05).

Tablo 9: GKZ skoruna göre PKOS ve kontrol gruplarında konfokal mikroskop ile SBNP tabakasından elde edilen parametrelerin karşılaştırılması

	PKOS GKZ <10 mm (n=17)	**PKOS GKZ ≥10 mm (n=10)**	**Kontrol (n=15)**	**Test Değeri**	**p**
Dentritik Hücre	99.13 ± 54.45 86.33 (9.00-209.30) [a]	71.31 ± 66.79 45.45 (13.60-223.00) [a]	19.77 ± 13.48 18.33 (2.33-45.33) [b]	**20.807**	**<0.001***
Kornea Sinir Lif Dansitesi	20.34 ± 8.08 20.83 (6.25-33.33)	19.37 ± 7.21 20.83 (8.33-29.16)	24.71 ± 5,72 27.08 (14.58-31.25)	4.212	0.212*
Kornea Sinir Dal Dansitesi	23.28 ± 11.83 25.00 (8.33-47.91)	24.16 ± 15.71 20.83 (2.08-47.91)	24.44 ± 10.18 27.08 (6.25-39.58)	0.038	0.963**
Kornea Sinir Lif Uzunluğu	13.48 ± 3.43 14.16 (4.70-18.58)	13.11 ± 4.04 12.82 (8.45-20.73)	14.88 ± 3.13 15.33 (9.37-20.53)	0.974	0.387**

Ortalama ± Standart Sapma; Ortanca (minimum-maximum); n(%)
Aynı satırlarda yer alan farklı harfler gruplar arası istatistiksel farklılığı ifade etmektedir.
*: Kruskal Wallis Testi
**: One Way Anova Testi

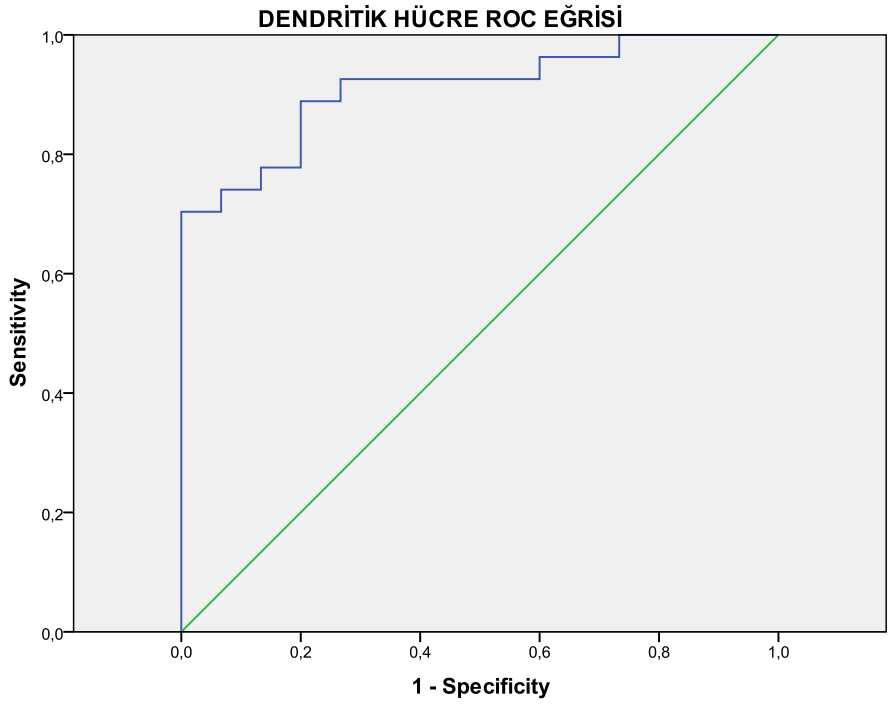
PKOS hastalarında ölçülen dendritik hücre, kornea sinir lif dansitesi, kornea sinir dal dansitesi, kornea sinir lif uzunluğu parametreleri ile yaş, OYHİ skoru, Schirmer-I testi, epitel hücre sayısı, endotel hücre sayısı, anterior stromal keratosit sayısı ve posterior stromal keratosit sayı verileri arasındaki ilişki Tablo 10'da değerlendirildi. Yaş ile kornea sinir lif dansitesi arasında pozitif yönlü düşük-orta düzeyde anlamlı korelasyon tespit edildi (r=0.393; p=0.042). Schirmer-I ile dendritik hücre parametreleri arasında negatif yönlü orta düzeyde anlamlı ilişki belirlendi (r=-0.567; p=0.002). Diğer parametreler arasında istatistiki olarak anlamlı ilişki bulunmadı (p>0.05).

Tablo 10: PKOS'lu hastalarda yaş, Schirmer-I testi, OYHİ ve konfokal mikroskop verilerinin korelasyon analizi

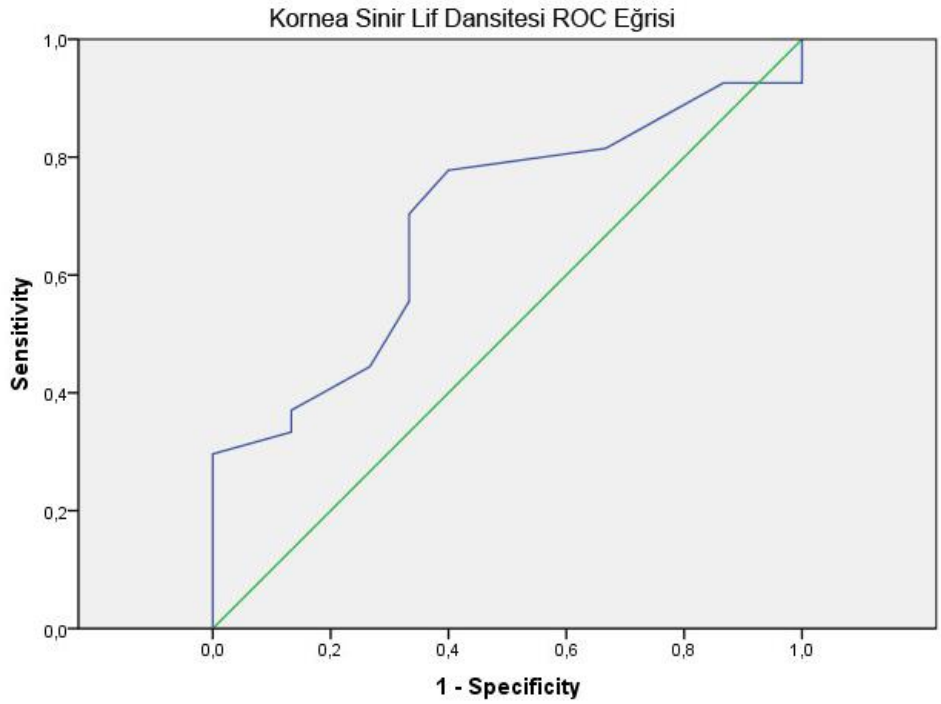
	Dentritik Hücre		Kornea Sinir Lif Dansitesi		Kornea Sinir Dal Dansitesi		Kornea Sinir Lif Uzunluğu	
	r	**p***	**r**	**p***	**r**	**p***	**r**	**p***
Yaş (yıl)	-0.241	0.226	**0.393**	**0.042**	0.102	0.613	0.272	0.170
OYHİ skoru	0.376	0.053	-0.059	0.769	-0.194	0.332	-0.131	0.515
Schirmer-I (mm)	**-0.567**	**0.002**	0.345	0.078	0.292	0.139	0.315	0.110
Epitel Hücre Sayısı	0.039	0.847	-0.288	0.145	-0.019	0.923	-0.083	0.682
Endotel Hücre Sayısı	0.195	0.330	-0.301	0.127	0.124	0.539	-0.138	0.494
Anterior Stromal Keratosit Sayıs	-0.150	0.456	0.098	0.626	0.293	0.138	0.069	0.733
Posterior Stromal Keratosit Sayısı	0.130	0.519	0.193	0.335	0.002	0.993	0.281	0.155

r: Korelasyon kat sayısı
***:** Pearson Korelasyon Testi

Konfokal mikroskop verilerinin PKOS varlığını tahmin etmedeki kesim noktası için ROC analizi yapıldı. Dendritik hücre sayısı için 26.83 ve daha yüksek değerlerin PKOS olma durumunu %88.9 sensivite ve %80.0 spesifite ile öngörebileceği belirlendi. Eğri altında kalan alan 0.911 ($p<0.001$; Güven Aralığı: 0.826-0.997) olarak bulundu (Şekil 15). Kornea sinir lif dansitesi için 23.96 ve daha düşük değerlerin PKOS olma durumunu %70,4 sensivite ve %66.7 spesifite ile öngörebileceği belirlendi. Eğri altında kalan alan 0.689 ($p=0.045$; Güven Aralığı: 0.525-0.852) olarak tespit edildi (Şekil 16).



Şekil 15: Dendritik hücre sayısının ROC analizi



Şekil 16: Kornea sinir lif dansitesi değerinin ROC analizi

5. TARTIŞMA

PKOS hormonal dengede bozulma ve kronik inflamasyon ile seyreden, etiyolojisi çok yönlü bir hastalık olup altta yatan faktörler halen araştırılmaktadır. PKOS'un glukoz intoleransı, insülin direnci, anormal lipit profili, obezite, kardiyovasküler sistem bozuklukları, diyabetes mellitus (DM), hipertansiyon, over kanseri gibi çok sayıda hastalığa sebp olabildiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Bu iyi bilinen sistemik etkilerinin yanında göz üzerinde de etkileri olduğu bildirilmiştir. Oküler yüzeyde kuru göz bulgularına yol açabildiği (41, 42) retina ve koroid tabakalarında değişikliklere sebep olduğu (43, 44) ortaya konulmuştur. Bu çalışma; PKOS tanılı hastalarda gözyaşı düzeyindeki değişikleri değerlendirmeyi ve kornea tabakalarını konfokal mikroskop ile inceleyerek bu tabakalarda meydana gelen değişiklikleri ortaya koymayı amaçlamaktadır.

Uluslararası Kuru Göz Grubu (DEWS) II raporlarında oküler yüzey; göz kapakları, kirpikler, gözyaşı filmi, kornea, konjonktiva, ana ve aksesuar lakrimal bezler, meibomian bezleri de dâhil göz ve adneks yapıları ile birlikte bir bütün olarak tanımlanmıştır (45). Oküler yüzey dokularında çeşitli seks steroid hormon reseptörlerinin varlığı yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (46-48). Seks steroid hormonlarının spesifik reseptörleri lakrimal bezlerde, meibomian bezlerinde, bulbar ve göz kapağı konjonktivasında, korneada, iris ve siliyer cisimde, lenste ve retina ve koroid seviyesinde gösterilmiş ve hedef dokularda metabolizmayı etkiledikleri yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (49, 50).

Acet ve ark. PKOS'lu hastalarda gözyaşı filmi stabilitesinin bozulduğunu ve bu bozulmaya gözyaşı filmi stabilitesinde anahtar rol oynayan meibomian gland kaybının eşlik ettiğini temazsız meibografi ile göstermiştir (51). Yine bir başka benzer çalışmada PKOS'lu hastalarda meibomian gland kaybı olduğu gösterilmiş ve aynı zamanda bu çalışmada PKOS olgularında yapılan kornea topografi incelemesinde keratometri değerlerinin kontrol grubuna göre daha dik olduğu saptanmıştır (52).

Adıyeke ve ark. yaptığı bir çalışmada PKOS olgularında ön segment bulguları değerlendirilmiş, Schirmer-I ve göz yaşı kırılma zamanı PKOS grubunda anlamlı düzeyde düşük olduğunu santral kornea kalınlığında ise kontrol grubuna göre artış olduğunu göstermişlerdir (3). Asfuroğlu ve ark. yaptıkları bir çalışmada ise PKOS'lu hastada gözyaşı fonksiyonları ile seks hormon düzeyleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda, PKOS grubundaki olgularda Schirmer-I test sonuçları ve GKZ değerlerinin daha

düşük ve ayrıca OYHİ skorlarının da anlamlı olarak daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (42). Sonuç olarak, PKOS ile kuru göz arasında sıkı bir ilişki olduğu ve bu durumun hastalığın doğasında bulunan androjen hormon yüksekliği yanında subklinik inflamasyonla da ilişkili olabileceğini savunmuşlardır.

Bonini ve ark. yaptığı bir çalışmada ise PKOS hastaları ile sadece ultrasonda polikistik overi olan hastalar karşılaştırılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda da PKOS hastalarında diğer gruplara kıyasla kaşıntı ile beraber kuru göz semptomlarının daha şiddetli olduğu ve PKOS grubunda konjonktival impresyon sitoloji analizinde goblet hücrelerinde artış olduğu gösterilmiştir (53). Bu çalışmada da Schirmer-I testi ve GKZ skor düzeyleri PKOS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ve sonuçlarımız literatürdeki çalışmaları destekler niteliktedir.

İnsan kornea epitel, stromal ve endotel hücrelerinin çekirdeklerinde östrojen, progesteron ve androjen reseptörleri tanımlanmıştır (54, 55). Östrojen, androjen ve progestojen reseptörleri, insan dönor kornealarını incelenerek alınan örneklerde epitel, stroma ve kornea endotelinde hem dişi hem de erkek dönor kornealarda saptanmıştır (56). Normal menstruasyon döngü sırasında, gebelik, menopoz gibi hormonal dalgalanmalarla seyreden durumlarda korneada yapısal değişikliklerin gözlemlenmesi (57-60) seks hormonlarının da kornea seviyesinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Bu etkilerden esas olarak, korneanın biyomekanik ve yapısal değişiminden sorumlu olan stromal matris proteinazlarının ve kollajenolitik enzimlerin aktivasyonunu uyaran östrojenler sorumlu tutulmuştur (61). Matris metalloproteinaz aktivasyonu ile östrojenin korneada kollajen yıkımı sonucunda kornea sertliğinde azalmaya yol açtığı savunulmuştur. Aynı zamanda östrojenin korneada hidrasyona yol açarak kornea santral kalınlığını arttırdığı tespit edilmiştir (62). Normal bir menstruasyonel döngüde sırasıyla östrojen ve progesteronun zirve yaptığı ovulasyon fazı ve premenstrüel luteal faz sırasında kornea kalınlığında bir artış kaydedilmiştir (57, 63).

İnsan kornea hücre kültürleriyle yapılan çalışmalarda, ekzojen 17β-estradiolün epidermal büyüme faktörü (EGF) seviyelerini arttırdığı ve in vitro olarak kornea epitel hücre göçünü ve proliferasyonunu desteklediği gösterilmiştir (64-66). PKOS'da dolaşımda seviyesi artan androjenlerin perifer dokularda östrojene dönüşmesiyle progesteronla karşılanmayan östrojen hiperöstrojenemik ortama yol açmaktadır. Çalışmada PKOS'lu olgularda KM ile hesaplanan kornea bazal epitel hücre dansitesinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğunu bulundu. Kornea epitel hücrelerinde saptadığımız bu

proliferasyon PKOS'lu olgularda hiperandrojenizme sekonder artan östrojen düzeyi sonucunda ortaya çıkmış olabilir. Çalışmada PKOS olgularında kontrol grubuna göre endotel hücrelerinde de anlamlı düzeyde artış olduğunu bulundu. Sendromda mevcut kronik inflamasyona sekonder azalması beklenen kornea endotel hücre sayısında azalmanın olmaması, östrojenin endotel üzerinde koruyucu bir etki oluşturabileceği kanısına varıldı. Speküler mikroskop ile PKOS hastalarında endotel sayısının değerlendirildiği bir çalışmada, kontrol grubuna göre azalma olduğu, fakat bu azalmanın istatistik olarak anlamlı düzeyde olmadığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada yine kornea endotel hücre sayısının artan östrojen ve hormon düzeyi ile zayıf korelasyon gösterdiği bulunmuş ve hastalığın şiddeti arttığında speküler mikroskopi bulgularında değişiklik olabileceği öne sürülmüştür (52). PKOS'da endotel hücrelerindeki değişiklikler henüz kapsamlı bir şekilde araştırılmamıştır.

İnsan oküler yüzeyinde insülin reseptörü ve insülin-like growth faktör (IGF-1) reseptör varlığı yapılan araştırmalarla tespit edilmiştir (67). En çok çalışılan izoform olan IGF-1'in korneada önemli biyoaktiviteye sahip olduğu ve kornea epitel hücre göçünü ve proliferasyonunu etkilediği, diyabetik keratopatide ve yara iyileşmesinde önemli etkileri olduğu bulunmuştur (68-70). Kebapçılar ve ark. PKOS olgularında ortaya çıkan insülin direncine bağlı olarak yüksek saptanan HOMA-IR (homeostasis model assessment-insulin resistance) ve IGF-1 seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulmuştur. Aynı çalışmada PKOS'lu hastalar ile kontrol grubunun santral korneal kalınlık (SKK) ölçümleri karşılaştırmış ve PKOS olgularında SKK, kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde yüksek saptanmışır. Ek olarak PKOS hastalarında IGF-1 düzeyinin SKK ile pozitif korelasyonu olduğu da gösterilmiştir (71). Benzer şekilde, GH'nin, akromegali gibi fazla IGF-1 salgılandığı durumlarda kornea kalınlığında ~%3-7'lik bir artışa neden olduğu bildirilmiştir (72, 73). Çalışmada PKOS olgularında tespit edilen epitel hücre sayısındaki artış, PKOS'da artan IGF-1 ve östrojen seyiyelerinin kornea epitel hücre tabakası üzerinde proliferasyona yol açmış olabileceği düşünüldü.

PKOS'da ortaya çıkan kronik inflamasyon çok sayıda yapılan çalışma ile ortaya konulmuştur. İnflamasyon artışını sağlayan sitokin ekspresyonunun olduğu ve bozulmuş antiinflamatuar ve proinflamatuar sitokin dengesi sonucunda değişen steroidogenezin over disfonksiyonuna yol açtığı savunulmaktadır (74, 75). PKOS'ta proinflamatuar sitokin Tümor Nekroz Faktörü-alfa (TNF-α) konsantrasyonu kontrol grubu sağlıklı kadınlara göre artmış olduğu (76), yine Amato ve ark. PKOS'lu infertil kadınlardaki folikül sıvısındaki TNF-α ekspresyonunun serum düzeyinden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (77). Aynı

şekilde farklı inflamatuar sitokinlerin artışı da çok sayıda çalışma ile gösterilmiştir. Bir diğer proinflamatuar sitokin olan İnterlökin-6 (IL-6) Tarkun ve ark. yaptığı çalışmada serum IL-6 seviyesinin zayıf PKOS grubunda daha yüksek seviyede olduğu ve bunun insülin direncine yol açtığını savunmuştur (78). Bir başka çalışmada ise infertil PKOS hastalarının daha yüksek IL-6 konsantrasyonuna sahip olduğunu savunmuştur (79). Yine İnterlökin -8 (IL-8) (80, 81) ve İnterlökin -18 (IL-18) (82-84) gibi inflamasyon ile ilişkili sitokin seviyelerinin PKOS hastalarında artmış olduğu gösterilmiştir. C-reaktif protein (CRP) karaciğer tarafından sentezlenen, sistemik inflamasyonun göstergesi olan akut faz proteinidir ve PKOS hastalarında CRP konsantrasyonu yüksek saptanmıştır (85, 86). Artan CRP seviyesinin kronik inflamasyonu indükleyerek kardiyovasküler hastalık, tip 2 DM gibi sistemik hastalık gelişimine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (87, 88). Artan inflamatuar belirteçlerin end organ hasarından sorumlu olduğu düşünülmüş ve yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Sistemik inflamasyon artışının oküler yüzeyi de etkilediği hipotezi ortaya atılmış ve çalışmalarla desteklenmiştir.

Yapılan çalışmalarda PKOS olgularında artan inflamasyon ve androjen hormon düzeyine bağlı olarak oküler yüzeyde etkileşimler olduğu savunulmaktadır. Ortalama kornea dentritik hücre yoğunluğunun normal değerlerin üzerine çıkması, korneada aktif bağışıklık tepkisi veya iltihaplanmanın bir göstergesi olarak kabul edilir(89). Literatürde Sistemik Lupus eritematozis (SLE) (90), Behçet Hastalığı (91), Multiple skleroz (92), kronik inflamatuar demiyelinizan polinöropati (93) gibi çeşitli immün aracılı ve inflamatuar durumlarda artmış Langerhans hücreleri KM çalışmaları ile gösterilmiştir.

Bu çalışmada PKOS olgularında korneal subbazal sinir pleksus tabakasında inflamatuar durumlarda artan Langerhans hücrelerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artmış olduğu saptandı. Ayrıca PKOS hastalarında artan inflamasyonu in vivo KM ile hücresel düzeyde gösterilerek ve PKOS'un kornea ve oküler yüzey elemanları için de bir hedef hastalık olduğu net olarak ortaya konulmuştur.

Literatürde kuru göz olgularında korneada KM ile yapılan çalışmalarda Langerhans hücrelerinin arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (94). Kuru göz; oküler yüzeyin inflamasyonu ile ilişkili olup, inflamasyon da kuru göz bulgularını tetikleyen bir faktördür ve aralarında kısır döngü oluşmaktadır (95). Bu çalışma ile PKOS'lu olgularda literatürdeki yayınlarla uyumlu olarak Schirmer-I skoru ve GKZ değeri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır.

Çalışmamız PKOS olgularında arttığı saptanan Langerhans hücrelerinin kuru göze bağlı olup olmadığını değerlendirmek için Schirmer-I skoru ve GKZ değerleri 10 üzeri ve altındaki PKOS olguları ayrı ayrı gruplandırılarak kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Langerhans hücreleri Schirmer-I skoru ve GKZ sonuçları <10 olan PKOS olgularında artmış olmakla beraber Schirmer-I skoru ve GKZ değeri >10 olan gruplarda da Langerhans hücrelerindeki artış anlamlı düzeyde saptanmıştır. Bu sonuca göre kuru göz parametleri yüksek olan PKOS olgularında korneada artmış saptanan inflamatuar hücrelerin altta yatan sistemik inflamasyon sonucunda ortaya çıktığı düşünüldü. Korneada kronik inflamasyonun bir sonucu olarak da kuru göz sendromuna sebep olduğu varsayılabilir.

Çalışmamızda saptanan anterior stromal keratosit sayısındaki azalmanın ortaya çıkan inflamasyon nedeniyle azalmış olabileceği düşünüldü. Wilson ve ark. yaptıkları çalışmada, salgılanan interlökin-1 (IL-1) ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-a) gibi sitokinlerin, keratositlerin apoptozunu modüle edebileceğini öne sürmüştür (96).

Araştırmamızda değerlendirilen bir diğer tabaka ise SBNP olup, bu tabakada kornea sinir lif dansitesi, kornea sinir dal dansitesi ve kornea sinir lif uzunluğu parametreleri analiz edildi. PKOS olgularında incelenen kornea sinir lif dansitesi, kornea sinir dal dansitesi ve kornea sinir lif uzunluğu değerlerinin kontrol grubuna göre azalmış olduğu, istatistiksel olarak sadece kornea sinir lif dansite parametresindeki azalma anlamlı saptandı. PKOS olgularında kontrol grubuna göre bu parametrelerdeki azalmanın sendromda ortaya çıkan kronik inflamatuar yanıtın bir sonucu olarak ortaya çıktığını düşünmekteyiz. Diyabetik farelerde korneal dendritik hücreler üzerinde yapılan bir çalışmada, kontrollere kıyasla dendritik hücrelerin sayıca fazla olması kornea infiltrasyonunun yanı sıra dendritik hücrelerin sayısı ile kornea sinir lifi yoğunluğu arasında önemli bir negatif korelasyon tanımlamıştır (97). Sinir hasarının ayrıca enflamatuar ajanlara sürekli maruz kalmaya yanıt olarak meydana geldiğini ve bunun tersi durum olan sinir hasarının, sinir liflerinin etrafını saran makrofaj infiltrasyonu ile lokal inflamatuar reaksiyonu tetiklediğini öne sürülmüştür (98). Ayrıca KM ile yapılan inflamatuar hastalıklarda da korneal sinir lif dansitesinin azaldığı gösterilmiştir. Araştırmamızda PKOS olgularında korneal sinir lif dansitesindeki azalmanın dentritik hücre yoğunluğunda anlamlı artıştan kaynaklanıyor olabilir.

Petropoulos ve ark. DM'li hastalarda KM ile korneal sinir lifleri incelenmiş ve korneal sinir kaybının diyabetik nöropatinin şiddeti ile ilişkili olup olmadığını değerlendirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada tüm korneal sinir parametrelerinin, diyabetik hastalar ve kontrol denekler arasında önemli ölçüde farklılık gösterdiği ve nöropatinin

şiddeti arttıkça korneal sinirlerdeki azalmanın progresif olarak kötüleştiğini ortaya koymuşlardır (99). Kronik hiperglisemi, kornea sinirleri de dâhil olmak üzere periferik sinirlerde nöral kayba yol açan sinir hasarıyla sonuçlanan çeşitli patolojik yolakları indüklediği yapılan çalışmalarla gösterilmiş ve diyabetik nöropatinin mekanizma yolağını başlatan ana faktör olarak düşünülmüştür (100, 101).

PKOS hastalarında artan insülin direnciyle bozulmuş glukoz töleransı, metabolik sendrom ve bunun sonucunda DM yatkınlık oluşabildiği çalışmalarla kanıtlanmıştır (102, 103). Bütün bunlardan yola çıkarak bizim çalışmamızda da azalan kornea sinir lif dansitesinin PKOS olgularında artan hiperglisemi, bozulmuş glukoz töleransı ve insülin direnci ile bağlantılı olabileceği düşünülebilir. Çalışmamız PKOS olgularında korneal sinir lif dansitesini değerlendiren ilk çalışma olması nedeniyle bu teoriyi destekleyen prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Literatürde PKOS'un oküler yüzeydeki etkilerini gösteren çalışmalar mevcut olmakla beraber bu tez çalışmasında PKOS'un gözyaşı ve oküler yüzey üzerindeki olumsuz etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Bunun yanı sıra PKOS olgularında kornea tabakalarını konfokal mikroskop ile değerlendirilerek bu tabakalardaki değişiklikleri ortaya koyan bir çalışma olmasıyla literatürde bir ilk olma özelliği taşımaktadır.

6. SONUÇ

PKOS hastalarında bozulan hormonal dengeye bağlı ortaya çıkan hiperandrojenizm ve östrojen düzeyinin artışına bağlı olarak oküler yüzey elemanlarında değişikliklere yol açtığı görülmüştür. Çalışmamız daha önceki çalışmalarla ortaya konulan östrojenin kornea epiteli üzerindeki proliferatif etkisini, kornea epitelini KM ile değerlendirilerek literatürde elde edilen sonuçlarla uyumludur.

Ayrıca PKOS olgularında kanıtlanmış sistemik kronik inflamasyonun korneada inflamatuar dentritik hücrelerin artışına yol açtığı gösterilmiş, korneanın ve oküler yüzeyin PKOS olgularında hedef organ olduğu ortaya konulmuştur. Kornea sinir lif dansitesindeki istatistiksel olarak anlamlı azalma, PKOS'ta mevcut kronik inflamasyon sonucunda oluşmuş olabilir. Diğer korneal parametrelerde (kornea sinir dal dansitesi ve kornea sinir lif uzunluğu) istatistiksel olarak anlamlı olmasa da kontrol grubuna göre değerlerin ortalamasında azalma olduğu görülmüştür. Bu parametrelerde ileri yaş PKOS'lu olgularda hastalığa mevcut kalınan süre arttıkça istatistik olarak da anlamlı sonuçlar elde edilebilir. Bu ilişkinin daha ayrıntılı olarak ortaya konulabilmesi için geniş hasta serilerinde yapılacak prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, çalışmamız PKOS'lu hastalarda oküler yüzeyin önemli bir elemanı olan korneada çeşitli etkileşimler olduğunu KM ile değerlendiren ilk çalışma olması nedeniyle gelecekteki çalışmalara ışık tutmaktadır. Bu nedenle PKOS hastalarında oluşabilecek oküler yüzey değişiklikleri, bu hastaların oftalmolojik muayenelerinde ve yapılacak oküler girişimlerde göz önüne alınmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Azziz R. Polycystic Ovary Syndrome. Obstetrics and gynecology. 2018;132(2):321-36.
2. Patel S. Polycystic ovary syndrome (PCOS), an inflammatory, systemic, lifestyle endocrinopathy. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology. 2018;182:27-36.
3. Karaca Adıyeke S, Karaca I, Yıldırım S, Adıyeke M, Uyar İ, Türe G. Anterior Segment Findings in Women with Polycystic Ovary Syndrome. Turkish journal of ophthalmology. 2017;47(1):24-7.
4. Yavas GF, Ozturk F, Kusbeci T, Ermis SS, Yilmazer M, Cevrioglu S, et al. Meibomian gland alterations in polycystic ovary syndrome. Current eye research. 2008;33(2):133-8.
5. Ma J, Wang Y, Wei P, Jhanji V. Biomechanics and structure of the cornea: implications and association with corneal disorders. Survey of ophthalmology. 2018;63(6):851-61.
6. Martin R. Cornea and anterior eye assessment with slit lamp biomicroscopy, specular microscopy, confocal microscopy, and ultrasound biomicroscopy. Indian journal of ophthalmology. 2018;66(2):195-201.
7. Shukla AN, Cruzat A, Hamrah P. Confocal microscopy of corneal dystrophies. Seminars in ophthalmology. 2012;27(5-6):107-16.
8. Escobar-Morreale HF. Polycystic ovary syndrome: definition, aetiology, diagnosis and treatment. Nature reviews Endocrinology. 2018;14(5):270-84.
9. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. Fertility and sterility. 2004;81(1):19-25.
10. Legro RS, Arslanian SA, Ehrmann DA, Hoeger KM, Murad MH, Pasquali R, et al. Diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome: an Endocrine Society clinical practice guideline. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 2013;98(12):4565-92.
11. Bednarska S, Siejka A. The pathogenesis and treatment of polycystic ovary syndrome: What's new? Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University. 2017;26(2):359-67.

12. Xiong YL, Liang XY, Yang X, Li Y, Wei LN. Low-grade chronic inflammation in the peripheral blood and ovaries of women with polycystic ovarian syndrome. European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology. 2011;159(1):148-50.

13. Dumesic DA, Oberfield SE, Stener-Victorin E, Marshall JC, Laven JS, Legro RS. Scientific Statement on the Diagnostic Criteria, Epidemiology, Pathophysiology, and Molecular Genetics of Polycystic Ovary Syndrome. Endocrine reviews. 2015;36(5):487-525.

14. Rojas J, Chávez M, Olivar L, Rojas M, Morillo J, Mejías J, et al. Polycystic ovary syndrome, insulin resistance, and obesity: navigating the pathophysiologic labyrinth. International journal of reproductive medicine. 2014;2014:719050.

15. Jones MR, Mathur R, Cui J, Guo X, Azziz R, Goodarzi MO. Independent confirmation of association between metabolic phenotypes of polycystic ovary syndrome and variation in the type 6 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase gene. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 2009;94(12):5034-8.

16. Sridhar MS. Anatomy of cornea and ocular surface. Indian journal of ophthalmology. 2018;66(2):190-4.

17. Zavala J, López Jaime GR, Rodríguez Barrientos CA, Valdez-Garcia J. Corneal endothelium: developmental strategies for regeneration. Eye (London, England). 2013;27(5):579-88.

18. Eghrari AO, Riazuddin SA, Gottsch JD. Overview of the Cornea: Structure, Function, and Development. Progress in molecular biology and translational science. 2015;134:7-23.

19. DelMonte DW, Kim T. Anatomy and physiology of the cornea. Journal of cataract and refractive surgery. 2011;37(3):588-98.

20. Thoft RA, Friend J. The X, Y, Z hypothesis of corneal epithelial maintenance. Investigative ophthalmology & visual science. 1983;24(10):1442-3.

21. Wilson SE, Torricelli AAM, Marino GK. Corneal epithelial basement membrane: Structure, function and regeneration. Experimental eye research. 2020;194:108002.

22. Dua HS, Said DG. Pre-Descemets endothelial keratoplasty: the PDEK clamp for successful PDEK. Eye (London, England). 2017;31(7):1106-10.

23. Espana EM, Birk DE. Composition, structure and function of the corneal stroma. Experimental eye research. 2020;198:108137.

24. Dua HS, Faraj LA, Said DG, Gray T, Lowe J. Human corneal anatomy redefined: a novel pre-Descemet's layer (Dua's layer). Ophthalmology. 2013;120(9):1778-85.

25. Yang AY, Chow J, Liu J. Corneal Innervation and Sensation: The Eye and Beyond. The Yale journal of biology and medicine. 2018;91(1):13-21.
26. Kim YH, Graham AD, Li W, Radke CJ, Lin MC. Human Lacrimal Production Rate and Wetted Length of Modified Schirmer's Tear Test Strips. Translational vision science & technology. 2019;8(3):40.
27. Minsky M. Memoir on inventing the confocal scanning microscope. Scanning. 1988;10(4):128-38.
28. Jalbert I, Stapleton F, Papas E, Sweeney DF, Coroneo M. In vivo confocal microscopy of the human cornea. The British journal of ophthalmology. 2003;87(2):225-36.
29. Erie JC, McLaren JW, Patel SV. Confocal microscopy in ophthalmology. American journal of ophthalmology. 2009;148(5):639-46.
30. Gramatikov BI. Modern technologies for retinal scanning and imaging: an introduction for the biomedical engineer. Biomedical engineering online. 2014;13:52.
31. Kaufman SC, Kaufman HE. How has confocal microscopy helped us in refractive surgery? Current opinion in ophthalmology. 2006;17(4):380-8.
32. Maurice DM. A scanning slit optical microscope. Investigative ophthalmology. 1974;13(12):1033-7.
33. AC U. Speküler Mikroskopi ve Konfokal Mikroskopi-Çalışma Mekanizmaları ve Oftalmolojideki Uygulamaları. Türkiye Klinikleri J Ophthalmol. 2011;20(2):89-98.
34. Stachs O, Guthoff RF, Aumann S. In Vivo Confocal Scanning Laser Microscopy. In: Bille JF, editor. High Resolution Imaging in Microscopy and Ophthalmology: New Frontiers in Biomedical Optics. Cham (CH): Springer Copyright 2019, The Author(s). 2019. p. 263-84.
35. Harrison DA, Joos C, Ambrósio R, Jr. Morphology of corneal Basal epithelial cells by in vivo slit-scanning confocal microscopy. Cornea. 2003;22(3):246-8.
36. Tavakoli M, Hossain P, Malik RA. Clinical applications of corneal confocal microscopy. Clinical ophthalmology (Auckland, NZ). 2008;2(2):435-45.
37. Cruzat A, Qazi Y, Hamrah P. In Vivo Confocal Microscopy of Corneal Nerves in Health and Disease. The ocular surface. 2017;15(1):15-47.
38. Niederer RL, Perumal D, Sherwin T, McGhee CN. Age-related differences in the normal human cornea: a laser scanning in vivo confocal microscopy study. The British journal of ophthalmology. 2007;91(9):1165-9.

39. Bitirgen G, Özkagnici A. Saglikli Insan Korneasinda Hücre ve Sinir Liflerinin In Vivo Konfokal Mikroskopi ile Degerlendirilmesi/In Vivo Confocal Microscopic Evaluation of Cells and Nerve Fibers of the Healthy Human Cornea. Türkiye Klinikleri Tip Bilimleri Dergisi. 2014;34(2):256.

40. Schiffman RM, Christianson MD, Jacobsen G, Hirsch JD, Reis BL. Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index. Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960). 2000;118(5):615-21.

41. Coksuer H, Ozcura F, Oghan F, Haliloglu B, Karatas S. Effects of hyperandrogenism on tear function and tear drainage in patients with polycystic ovary syndrome. The Journal of reproductive medicine. 2011;56(1-2):65-70.

42. Asfuroğlu Y, Kan Ö, Asfuroğlu M, Baser E. Association Between Dry Eye and Polycystic Ovary Syndrome: Subclinical Inflammation May Be Part of the Process. Eye & contact lens. 2021;47(1):27-31.

43. Açmaz G, Ataş M, Gülhan A, Açmaz B, Ataş F, Aksoy H. Evaluation of the Macula, Retinal Nerve Fiber Layer, and Choroid Thickness in Women With Polycystic Ovary Syndrome Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif). 2014;21(8):1044-9.

44. Demir M, Guven D, Koc A, Ozdemir S, Can E. Retinal nerve fiber layer thickness in women with polycystic ovary syndrome. Journal of ophthalmology. 2013;2013:752186.

45. Craig JP, Nichols KK, Akpek EK, Caffery B, Dua HS, Joo CK, et al. TFOS DEWS II Definition and Classification Report. The ocular surface. 2017;15(3):276-83.

46. Wickham LA, Gao J, Toda I, Rocha EM, Ono M, Sullivan DA. Identification of androgen, estrogen and progesterone receptor mRNAs in the eye. Acta ophthalmologica Scandinavica. 2000;78(2):146-53.

47. Esmaeli B, Harvey JT, Hewlett B. Immunohistochemical evidence for estrogen receptors in meibomian glands. Ophthalmology. 2000;107(1):180-4.

48. Gupta PD, Johar K, Sr., Nagpal K, Vasavada AR. Sex hormone receptors in the human eye. Survey of ophthalmology. 2005;50(3):274-84.

49. Mantelli F, Moretti C, Micera A, Bonini S. Conjunctival mucin deficiency in complete androgen insensitivity syndrome (CAIS). Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie. 2007;245(6):899-902.

50. Sullivan DA, Sullivan BD, Evans JE, Schirra F, Yamagami H, Liu M, et al. Androgen deficiency, Meibomian gland dysfunction, and evaporative dry eye. Annals of the New York Academy of Sciences. 2002;966:211-22.
51. Acet Y, Sarikaya S. Tear film impairment and meibomian gland loss in patients with polycystic ovary syndrome. International ophthalmology. 2022.
52. Balıkçı AT, Ulutaş HG, Özgen GA. Evaluation of meibomian gland morphology and anterior segment parameters by Sirius topography systems in polycystic ovary syndrome. Indian journal of ophthalmology. 2022;70(8):2922-8.
53. Bonini S, Mantelli F, Moretti C, Lambiase A, Bonini S, Micera A. Itchy-dry eye associated with polycystic ovary syndrome. American journal of ophthalmology. 2007;143(5):763-71.
54. Mantelli F, Moretti C, Macchi I, Massaro-Giordano G, Cozzupoli GM, Lambiase A, et al. Effects of Sex Hormones on Ocular Surface Epithelia: Lessons Learned From Polycystic Ovary Syndrome. Journal of cellular physiology. 2016;231(5):971-5.
55. Vécsei PV, Kircher K, Kaminski S, Nagel G, Breitenecker G, Kohlberger PD. Immunohistochemical detection of estrogen and progesterone receptor in human cornea. Maturitas. 2000;36(3):169-72.
56. Hadeyama T, Nakayasu K, Ha NT, Nakamura S. [Expression of estrogen receptors alpha and beta, androgen receptors and progesterone receptors in human cornea]. Nippon Ganka Gakkai zasshi. 2002;106(9):557-64.
57. Goldich Y, Barkana Y, Pras E, Fish A, Mandel Y, Hirsh A, et al. Variations in corneal biomechanical parameters and central corneal thickness during the menstrual cycle. Journal of cataract and refractive surgery. 2011;37(8):1507-11.
58. Mishra D, Bhushan P, Sachan S, Singh MK, Jayadev C, Kusumgar P. Variations in the central corneal thickness during the menstrual cycle in Indian women. Indian journal of ophthalmology. 2020;68(12):2918-20.
59. Aydin E, Demir HD, Demirturk F, Caliskan AC, Aytan H, Erkorkmaz U. Corneal topographic changes in premenopausal and postmenopausal women. BMC ophthalmology. 2007;7:9.
60. Jani D, McKelvie J, Misra SL. Progressive corneal ectatic disease in pregnancy. Clinical & experimental optometry. 2021;104(8):815-25.
61. Suzuki T, Sullivan DA. Estrogen stimulation of proinflammatory cytokine and matrix metalloproteinase gene expression in human corneal epithelial cells. Cornea. 2005;24(8):1004-9.

62. Lopilly Park HY, Kim JH, Lee KM, Park CK. Effect of prostaglandin analogues on tear proteomics and expression of cytokines and matrix metalloproteinases in the conjunctiva and cornea. Experimental eye research. 2012;94(1):13-21.
63. Giuffrè G, Di Rosa L, Fiorino F, Bubella DM, Lodato G. Variations in central corneal thickness during the menstrual cycle in women. Cornea. 2007;26(2):144-6.
64. Oh TH, Chang DJ, Choi JS, Joo CK. Effects of 17β-estradiol on human corneal wound healing in vitro. Cornea. 2012;31(10):1158-64.
65. Yan L, Wu W, Wang Z, Li C, Lu X, Duan H, et al. Comparative study of the effects of recombinant human epidermal growth factor and basic fibroblast growth factor on corneal epithelial wound healing and neovascularization in vivo and in vitro. Ophthalmic research. 2013;49(3):150-60.
66. Choi JS, Joo CK. Wakayama symposium: new therapies for modulation of epithelialization in corneal wound healing. The ocular surface. 2013;11(1):16-8.
67. Rocha EM, Cunha DA, Carneiro EM, Boschero AC, Saad MJ, Velloso LA. Identification of insulin in the tear film and insulin receptor and IGF-1 receptor on the human ocular surface. Investigative ophthalmology & visual science. 2002;43(4):963-7.
68. Priyadarsini S, Whelchel A, Nicholas S, Sharif R, Riaz K, Karamichos D. Diabetic keratopathy: Insights and challenges. Survey of ophthalmology. 2020;65(5):513-29.
69. Stuard WL, Titone R, Robertson DM. The IGF/Insulin-IGFBP Axis in Corneal Development, Wound Healing, and Disease. Frontiers in endocrinology. 2020;11:24.
70. McKay TB, Priyadarsini S, Karamichos D. Sex Hormones, Growth Hormone, and the Cornea. Cells. 2022;11(2).
71. Kebapcilar AG, Tatar MG, Ipekci SH, Gonulalan G, Korkmaz H, Baldane S, et al. Cornea in PCOS patients as a possible target of IGF-1 action and insulin resistance. Arch Gynecol Obstet. 2014;290(6):1255-63.
72. Altinkaynak H, Duru N, Ersoy R, Kalkan Akcay E, Ugurlu N, Cagil N, et al. Topographic and biomechanical evaluation of cornea in patients with acromegaly. Cornea. 2015;34(1):65-70.
73. Ciresi A, Amato MC, Morreale D, Lodato G, Galluzzo A, Giordano C. Cornea in acromegalic patients as a possible target of growth hormone action. Journal of endocrinological investigation. 2011;34(2):e30-5.
74. Vural P, Değirmencioğlu S, Saral NY, Akgül C. Tumor necrosis factor alpha (-308), interleukin-6 (-174) and interleukin-10 (-1082) gene polymorphisms in polycystic ovary

syndrome. European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology. 2010;150(1):61-5.

75. Duleba AJ, Dokras A. Is PCOS an inflammatory process? Fertility and sterility. 2012;97(1):7-12.

76. Thathapudi S, Kodati V, Erukkambattu J, Katragadda A, Addepally U, Hasan Q. Tumor necrosis factor-alpha and polycystic ovarian syndrome: a clinical, biochemical, and molecular genetic study. Genetic testing and molecular biomarkers. 2014;18(9):605-9.

77. Amato G, Conte M, Mazziotti G, Lalli E, Vitolo G, Tucker AT, et al. Serum and follicular fluid cytokines in polycystic ovary syndrome during stimulated cycles. Obstetrics and gynecology. 2003;101(6):1177-82.

78. Tarkun I, Cetinarslan B, Türemen E, Cantürk Z, Biyikli M. Association between Circulating Tumor Necrosis Factor-Alpha, Interleukin-6, and Insulin Resistance in Normal-Weight Women with Polycystic Ovary Syndrome. Metabolic syndrome and related disorders. 2006;4(2):122-8.

79. Samy N, Hashim M, Sayed M, Said M. Clinical significance of inflammatory markers in polycystic ovary syndrome: their relationship to insulin resistance and body mass index. Disease markers. 2009;26(4):163-70.

80. Ali DE, Shah M, Ali A, Malik MO, Rehman F, Badshah H, et al. Treatment with Metformin and Combination of Metformin Plus Pioglitazone on Serum Levels of IL-6 and IL-8 in Polycystic Ovary Syndrome: A Randomized Clinical Trial. Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme. 2019;51(11):714-22.

81. Rostamtabar M, Esmaeilzadeh S, Tourani M, Rahmani A, Baee M, Shirafkan F, et al. Pathophysiological roles of chronic low-grade inflammation mediators in polycystic ovary syndrome. Journal of cellular physiology. 2021;236(2):824-38.

82. Long X, Li R, Yang Y, Qiao J. Overexpression of IL-18 in the Proliferative Phase Endometrium of Patients With Polycystic Ovary Syndrome. Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif). 2017;24(2):252-7.

83. Dawood A, Alkafrawy N, Saleh S, Noreldin R, Zewain S. The relationship between IL-18 and atherosclerotic cardiovascular risk in Egyptian lean women with polycystic ovary syndrome. Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology. 2018;34(4):294-7.

84. Sathyapalan T, Atkin SL. Mediators of inflammation in polycystic ovary syndrome in relation to adiposity. Mediators of inflammation. 2010;2010:758656.

85. Kelly CC, Lyall H, Petrie JR, Gould GW, Connell JM, Sattar N. Low grade chronic inflammation in women with polycystic ovarian syndrome. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 2001;86(6):2453-5.

86. Engin-Ustün Y, Ustün Y, Meydanli MM, Kafkasli A, Yetkin G. Are polycystic ovaries associated with cardiovascular disease risk as polycystic ovary syndrome? Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology. 2006;22(6):324-8.

87. Cakal E, Ustun Y, Engin-Ustun Y, Ozkaya M, Kilinç M. Serum vaspin and C-reactive protein levels in women with polycystic ovaries and polycystic ovary syndrome. Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology. 2011;27(7):491-5.

88. Lakhani K, Prelevic GM, Seifalian AM, Atiomo WU, Hardiman P. Polycystic ovary syndrome, diabetes and cardiovascular disease: risks and risk factors. Journal of obstetrics and gynaecology : the journal of the Institute of Obstetrics and Gynaecology. 2004;24(6):613-21.

89. Yamaguchi T, Hamrah P, Shimazaki J. Bilateral Alterations in Corneal Nerves, Dendritic Cells, and Tear Cytokine Levels in Ocular Surface Disease. Cornea. 2016;35 Suppl 1(Suppl 1):S65-s70.

90. Bitirgen G, Kucuk A, Ergun MC, Baloglu R, Gharib MH, Al Emadi S, et al. Subclinical Corneal Nerve Fiber Damage and Immune Cell Activation in Systemic Lupus Erythematosus: A Corneal Confocal Microscopy Study. Translational vision science & technology. 2021;10(14):10.

91. Bitirgen G, Tinkir Kayitmazbatir E, Satirtav G, Malik RA, Ozkagnici A. In Vivo Confocal Microscopic Evaluation of Corneal Nerve Fibers and Dendritic Cells in Patients With Behçet's Disease. Frontiers in neurology. 2018;9:204.

92. Khan A, Li Y, Ponirakis G, Akhtar N, Gad H, George P, et al. Corneal Immune Cells Are Increased in Patients With Multiple Sclerosis. Translational vision science & technology. 2021;10(4):19.

93. Stettner M, Hinrichs L, Guthoff R, Bairov S, Petropoulos IN, Warnke C, et al. Corneal confocal microscopy in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. Annals of clinical and translational neurology. 2016;3(2):88-100.

94. Machetta F, Fea AM, Actis AG, de Sanctis U, Dalmasso P, Grignolo FM. In vivo confocal microscopic evaluation of corneal langerhans cells in dry eye patients. The open ophthalmology journal. 2014;8:51-9.
95. Iaccheri B, Torroni G, Cagini C, Fiore T, Cerquaglia A, Lupidi M, et al. Corneal confocal scanning laser microscopy in patients with dry eye disease treated with topical cyclosporine. Eye (London, England). 2017;31(5):788-94.
96. Wilson SE, Netto M, Ambrósio R, Jr. Corneal cells: chatty in development, homeostasis, wound healing, and disease. American journal of ophthalmology. 2003;136(3):530-6.
97. Leppin K, Behrendt AK, Reichard M, Stachs O, Guthoff RF, Baltrusch S, et al. Diabetes mellitus leads to accumulation of dendritic cells and nerve fiber damage of the subbasal nerve plexus in the cornea. Investigative ophthalmology & visual science. 2014;55(6):3603-15.
98. Belmonte C, Nichols JJ, Cox SM, Brock JA, Begley CG, Bereiter DA, et al. TFOS DEWS II pain and sensation report. The ocular surface. 2017;15(3):404-37.
99. Petropoulos IN, Alam U, Fadavi H, Asghar O, Green P, Ponirakis G, et al. Corneal nerve loss detected with corneal confocal microscopy is symmetrical and related to the severity of diabetic polyneuropathy. Diabetes care. 2013;36(11):3646-51.
100. Efron N. The Glenn A. Fry award lecture 2010: Ophthalmic markers of diabetic neuropathy. Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry. 2011;88(6):661-83.
101. Markoulli M, Flanagan J, Tummanapalli SS, Wu J, Willcox M. The impact of diabetes on corneal nerve morphology and ocular surface integrity. The ocular surface. 2018;16(1):45-57.
102. Macut D, Bjekić-Macut J, Rahelić D, Doknić M. Insulin and the polycystic ovary syndrome. Diabetes research and clinical practice. 2017;130:163-70.
103. Hoeger KM, Dokras A, Piltonen T. Update on PCOS: Consequences, Challenges, and Guiding Treatment. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 2021;106(3):e1071-e83.